ベムリディ錠 25 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

ギリアド・サイエンシズ株式会社

(0000)

目次

1 まとめ 11
2 分析法 17
2.1 非標識体 18
2.1.1 血漿中 TAF 及び TFV 濃度定量法 18
2.1.2 血漿中 TFV 濃度定量法 19
2.1.3 乳汁中 TFV 定量法 21
2.1.4 PBMC 中 TFV 濃度定量法 21
2.2 標識体 22
2.2.1 標識化合物 22
2.2.2 分析法 24
3 吸収 24
3.1 *In vitro* 24
3.2 *In vivo* 25
3.2.1 単回投与 25
3.2.2 反復投与 31
4 分布 36
4.1 組織内分布試験 36
4.1.1 マウス 36
4.1.2 ラット 40
4.1.3 イヌ 46
4.2 血漿タンパク結合率 46
4.3 胎盤通過 47
4.3.1 妊娠ラット 47
4.3.2 妊娠ウサギ 48
4.3.3 妊娠サル 48
4.3.4 乳汁移行 48

4.3.5 幼若サル 49
4.4 血球移行率 50
5 代謝 51
5.1 *In vitro* 51
5.1.1 代謝安定性 51
5.1.2 CYP 同定 51
5.1.3 ヒト肝細胞での TAF の活性化 52
5.1.4 TFV の安定性 54
5.2 *In vivo* 54
5.2.1 マウス、ラット及びイヌ 54
5.2.2 サル 58
5.3 推定代謝経路 58
6 排泄 60
6.1 尿糞中排泄 60
6.1.1 マウス 60
6.1.2 ラット 60
6.1.3 イヌ 61
6.2 胆汁中排泄 62
6.2.1 ラット及びイヌ 62
7 薬物動態学的薬物相互作用 63
7.1 CYP 阻害 64
7.2 UGT1A1 の阻害 65
7.3 肝酵素誘導 65
7.4 TAF の代謝 66
7.5 TAF 及び TFV のトランスポーターを介した薬物相互作用 68
7.5.1 P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 70
7.5.2 その他のトランスポーター 74

8　その他の薬物動態試験 76

9　考察及び結論 76

10　参考文献 80

表目次

表 2.6.4- 1　薬物動態試験一覧.....14

表 2.6.4- 2　非臨床薬物動態試験で使用した[^{14}C]-TAF の比放射活性及び放射化学的純度.....23

表 2.6.4- 3　非臨床薬物動態試験で使用した[^{14}C]-TFV の比放射活性及び放射化学的純度.....23

表 2.6.4- 4　Caco-2 単層膜細胞を用いた TAF の膜透過性.....24

表 2.6.4- 5　CD-1 マウスに TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK パラメーター.....26

表 2.6.4- 6　TgRasH2 野生型マウスに TAF（ヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK パラメーター.....26

表 2.6.4- 7　ラットに TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK パラメーター.....28

表 2.6.4- 8　サルに TAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV の PK パラメーター.....30

表 2.6.4- 9　サルに TAF（モノフマル酸塩）を 5 及び 50 mg/kg で経口投与後の PBMC 中 TFV 濃度.....31

表 2.6.4- 10　CD-1 及び C57 マウスに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）.....37

表 2.6.4- 11　SD 及び LE ラットに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）.....41

表 2.6.4- 12　マウスでの血球移行率.....50

表 2.6.4- 13　ラットでの血球移行率.....50

表 2.6.4- 14　TAF のイヌ及びヒト血漿、小腸 S9 画分並びに肝 S9 画分中安定性.....51

表 2.6.4- 15　血漿、尿、胆汁及び糞中 TAF 代謝物の割合（%）.....57

表 2.6.4- 16　TAF をヒトに経口投与後の定常状態での TAF 及び TFV の PK パラメーター.....63

表 2.6.4- 17　TAF による CYP 活性及び mRNA 誘導作用（平均値、3 ドナー）.....66

表 2.6.4- 18　TAF のヒト小腸 S9 画分における他剤による阻害作用.....67

表 2.6.4- 19　TAF 及び TFV の各トランスポーターの基質／阻害剤.....69

表 2.6.4- 20　Caco-2 細胞での COBI の TAF 膜透過性に対する影響.....70

表 2.6.4- 21　雄イヌに TAF 及び TFV を経口投与後の血漿中 PK パラメーター.....71

表 2.6.4- 22　TAF の OAT1/3、OCT1/2、MATE1 及び BSEP に関する試験の実験条件.....74

表 2.6.4- 23　TFV を静脈内投与後の PK パラメーターの比較（平均値）..... 79

図目次

図 2.6.4- 1　[^{14}C]-TAF の構造式 23

図 2.6.4- 2　[^{14}C]-TFV の構造式 23

図 2.6.4- 3　イヌに TAF（モノフマル酸塩）を投与後の血漿中 TAF 及び TFV 並びに肝臓中 TFV、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度推移 29

図 2.6.4- 4　イヌに TAF（ヘミフマル酸塩）を反復投与 1 及び 7 日目の血漿中 TAF 及び TFV 濃度推移 33

図 2.6.4- 5　イヌに TAF（ヘミフマル酸塩）を反復投与 7 日目の肝臓中 TFV、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度 34

図 2.6.4- 6　SD ラットに[^{14}C]-TAF（5 mg/kg）を単回経口投与 0.25 時間後のオートラジオグラム 44

図 2.6.4- 7　LE ラットに[^{14}C]-TAF（5 mg/kg）を単回経口投与 0.25 時間後のオートラジオグラム 45

図 2.6.4- 8　TAF の細胞内活性化経路 53

図 2.6.4- 9　TAF、TDF 及び TFV をヒト初代肝細胞とインキュベート後の TFV-DP の生成 53

図 2.6.4- 10　TAF の推定代謝経路 59

図 2.6.4- 11　胆管カニューレ挿入イヌに[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg で単回経口投与後の尿、糞、胆汁及びケージ洗浄液中累積排泄率 63

図 2.6.4- 12　ヒト初代肝細胞での TAF の細胞内活性化におけるエステラーゼ及び CYP 阻害剤による影響 68

図 2.6.4- 13　OATP1B1 及び OATP1B3 による TAF の取り込み 72

図 2.6.4- 14　ヒト初代肝細胞での TAF 取込みへのリファンピシンの影響 72

略号及び用語の定義一覧

略号	日本語	英語
AhR	芳香族炭化水素受容体	aryl hydrocarbon receptor
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under concentration versus time curve
AUC_{inf}	$AUC_{0\text{-}last} + (C_{last}/\lambda_z)$により算出した、0 時間から無限時間までの濃度－時間曲線下面積	area under concentration versus time curve extrapolated to infinite time, calculated as $AUC_{0-last} + (C_{last}/\lambda_z)$
$AUC_{0\text{-}t}$	0 時間から t 時間までの濃度－時間曲線下面積	partial area under concentration versus time curve from time “0” to “t” (default units are hours)
$AUC_{0\text{-}\tau}$	1 投与間隔あたりの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve through the dosing interval
BCRP	乳癌耐性蛋白	breast cancer resistance protein (ABCG2)
BDC	胆管カニューレ挿入	bile duct-cannulated
BLQ	定量下限未満	below the limit of quantification
BNPP	ビス p-ニトロフェニルフォスフェート	bis-p-nitrophenyl phosphate
BSEP	-	bile salt export pump
Caco-2	ヒト結腸癌由来の細胞株	human colonic adenocarcinoma cell line
CatA	カテプシン A	cathepsin A
CEM-R1	-	human T-cell leukemic lymphoblast cells line
CES1	カルボキシルエステラーゼ 1	carboxylesterase 1
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	chinese hamster ovary
CL	全身クリアランス	systemic clearance
CL/F	見かけのクリアランス	apparent clearance after oral administration of the drug
C_{max}	最高濃度	maximum observed concentration of drug
CMC	カルボキシメチルセルロース	carboxymethyl cellulose
COBI	コビシスタット	cobicistat (GS-9350)
CsA	シクロスポリン A	cyclosporine A
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DMSO	ジメチルスルホキシド	dimethyl sulfoxide
DRE	-	drug/dioxin response element
F	絶対的バイオアベイラビリティ	absolute bioavailability
GD	妊娠（日数）	gestation 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
GS-7171	TAF のラセミ混合物	racemic mixture of TAF, GS-7340
GS-7339	TAF のジアステレオマーB	diastereomer B of TAF, GS-7340

略号及び用語の定義一覧（続き）

略号	日本語	英語
HBV	B 型肝炎ウイルス	hepatitis B virus
HIV-1	ヒト免疫不全ウイルス 1 型	human immunodeficiency virus, type 1
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	high performance liquid chromatography
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	hydroxypropylmethylcellulose
IC_{50}	50%阻害濃度	concentration required to produce 50% inhibition
Km	ミカエリス定数	Michaelis constant
LC/MS/MS	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	high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry
LC/MS/RFD	ラジオフロー検出器を備えた LC/MS/MS	high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry equipped with radio detector
LE	-	Long Evans
LLOQ	定量下限	lower limit of quantification
LSC	液体シンチレーションカウンター	liquid scintillation counting
MATE	-	multidrug and toxin extrusion protein
MDCK II	イヌ腎臓尿細管上皮細胞	Madin-Darby canine kidney cell line
MDR1	P 糖蛋白の遺伝子産物	multiple drug resistance 1 (P-gp, ABCB1 gene product)
mRNA	メッセンジャーリボ核酸	messenger ribonucleic acid
MRP	多剤耐性関連蛋白質	multidrug resistance-associated protein
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸	β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)
OAT	有機アニオントランスポーター	organic anion transporter
OATP	-	organic anion transporting polypeptide (SLCO or SLC21A gene products)
OATP	-	organic anion transporting polypeptide
OCT	-	organic cation transporter
P_{app}	みかけの膜透過性	apparent permeability
PBMC	末梢血単核球	peripheral blood mononuclear cell
P-gp	P 糖蛋白	P-glycoprotein (also see MDR1)
PI	プロテアーゼ阻害剤	protease inhibitor
PK	薬物動態	pharmacokinetics
PXR	プレグナン X 受容体	pregnane X receptor
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー	quantitative whole-body autoradiography
RBC	赤血球	red blood cell
RFD	ラジオフロー検出器	radio flow-through detector

略号及び用語の定義一覧（続き）

略号	日本語	英語
RO	逆浸透	Reverse osmosis
RT	逆転写酵素	reverse transcriptase
SD	-	Sprague-Dawley
TAF	テノホビル アラフェナミド GS-7340	tenofovir alafenamide
TDF	テノホビル ジソプロキシルフマル酸塩	tenofovir disoproxil fumarate
TFV	テノホビル、GS-1278	tenofovir (GS-1278, R-PMPA)
TFV-Ala	テノホビル-アラニン	TFV-Alanine
TFV-MP	テノホビル一リン酸	tenofovir monophosphate
TFV-DP	テノホビル二リン酸	tenofovir diphosphate
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
$t_{½}$	消失半減期	half-life
t_{max}	最高濃度到達時間	time (observed time point) of C_{max}
UGT	UDP グルクロン酸転移酵素	uridine diphosphate glucuronosyltransferase
V_{ss}	定常状態の分布容積	apparent steady-state volume of distribution of the drug
λ_z	消失速度定数	elimination rate determined from the terminal phase of the plasma concentration versus time curve

1　まとめ

本項では、B 型慢性肝炎の治療薬であるテノホビル アラフェナミド（TAF、開発コード：GS-7340）錠を製造販売承認申請するための非臨床薬物動態試験の結果［トキシコキネティクス（TK）試験も含む］について述べる。

TAF はテノホビル（TFV）のプロドラッグである。TFV はヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤（NtRTI）であり、B 型肝炎ウイルス（HBV）逆転写酵素（RT）及びヒト免疫不全ウイルス 1 型（HIV-1）RT を阻害するヌクレオチドアナログである。TFV の膜透過性及び経口バイオアベイラビリティは低い。TFV の別のプロドラッグであるテノホビル ジソプロキシルフマル酸塩（TDF）は、既に B 型慢性肝炎の治療を適応として承認されている（販売名：テノゼット錠®300mg）。

TAFは標的細胞で速やかにTFVに加水分解された後、リン酸化されて活性代謝物であるテノホビル二リン酸（TFV-DP）に代謝される。TFV-DPはHBV RT及びHIV-1 RTを阻害し、ウイルスのDNA鎖伸長を停止させる［1、2］。TAFはヒト血漿中でTDFよりも安定であるため、TDFの約1/10 の投与量でも細胞内TFV-DP濃度は高く、循環血中TFV濃度は約 90%低い［3、4、5］（2.7.2.2.3.1.1 項）。TAFはこの特有の代謝メカニズムにより、TDFよりも改善された臨床プロファイルを示す可能性がある。

TAFと代謝酵素との相互作用は少なく、ヒト初代肝細胞では主にカルボキシルエステラーゼ 1（CES1）により加水分解される［4、5、6］。また、*in vitro*試験において、TAFは、受動輸送及び寄与は少ないが肝取り込みトランスポーターであるorganic anion transporting polypeptide（OATP）1B1 及びOATP1B3 によって効率よく肝細胞に取り込まれる［6］。この効率的な肝取り込み及び肝細胞内での代謝によって、*in vitro*試験でのTAF添加時の細胞内TFV-DP濃度はTFV添加時に比べて 120 倍、TDF添加時に比べて 5 倍上昇した［6］。このように、TAFは肝へのTFVの送達を増加させる。イヌにTAFを経口投与したときの肝抽出率が投与量の約 65%であり、高濃度のTFV-DPがイヌ肝臓内に観測されたということからも、B型慢性肝炎の治療においてTAFが活性代謝物の肝臓への取り込みを増大させることが示唆される［6、7］。

TAF（及び／又は TFV）の吸収、分布、代謝及び排泄プロファイル並びに薬物動態学的薬物相互作用の可能性について検討した。非臨床薬物動態試験の一覧を表 2.6.4- 1 に示す。

マウス、ラット、イヌ及びサルで TAF の吸収を評価した。吸収の評価には TK 試験も含めた。TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を用いた非臨床薬物動態試験については、全ての用量を TAF 遊離塩基当量として表した。

マウス及びラットに TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後、TAF は速やかに吸収され、最高濃度到達時間（t_{max}）はマウスで 0.08～4 時間、イヌで 0.08～0.32 時間、サルで 0.33～0.8 時間であった。ラット血漿中では TAF は検出できなかった。その後、血漿中 TAF は消失半減期（$t_{1/2}$）1 時間未満で急速に消失した。血漿中 TAF 濃度の急速な消失と同時に、主代謝物である TFV が生成した。マウス及びラットともに TAF（モノフマル酸塩）及び TAF（ヘミフマル酸塩）投与時の血漿中 TFV の薬物動態（PK）パラメーターに塩の影響はみられなかった。ラットで TAF（モノフマル酸塩）経口投与における投与媒体の影響を検討した。投与媒体にはカルボキシメチルセルロース（CMC）及び 50 mmol/L クエン酸を用いた。投与媒体に CMC を用いた

ときの血漿中 TFV の最高濃度（C_{max}）は 50 mmol/L クエン酸を用いたときよりも高かった。また、同試験で TAF（モノフマル酸塩）と TDF を経口投与後の曝露を比較したところ、TAF（モノフマル酸塩）投与後の血漿中 TFV の C_{max} 及び濃度－時間曲線下面積（AUC）は TDF 投与後に比べて 2～3 倍高値であった。イヌに TAF（モノフマル酸塩）を絶食下で経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティ（F）は 41.2%～76.3%であった。摂食時の F は 16.5%で絶食下に比べて低かった。イヌに TAF（ヘミフマル酸塩）を経口投与後、肝臓において高濃度の TFV-DP が認められ、$t_{1/2}$ は 20 時間超であった。さらに、*in vitro* 試験では、ヒト初代肝細胞で TAF をインキュベートした結果、高い細胞内 TFV-DP 濃度が得られた。マウス（14 日間及び 13 週間）、ラット（28 日間及び 26 週間）、イヌ（7 日間、28 日間及び 9 ヵ月）及びサル（28 日間）に TAF（モノフマル酸塩）を反復経口投与後の TAF 及び TFV の PK パラメーターに、顕著な性差はみられなかった。また、イヌ 28 日間投与で反復投与による蓄積性がみられたものの、それ以外の試験では顕著な蓄積性はみられなかった。

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-TAF を経口投与後、いずれの動物種においても、放射能は各組織に広範に分布した。高い肝抽出率と一致して、肝臓で高濃度の放射能が認められた。腎臓でも高濃度の放射能が認められた。マウスでの脳及び精巣中放射能濃度は低かった。有色マウスでのブドウ膜及び有色皮膚への分布傾向から、放射能はメラニン含有組織に選択的に結合しないことが示唆された。またラットでもメラニンへの結合を示すエビデンスは得られなかった。*In vitro* 試験で得られた TAF のヒト血漿タンパク結合率は中程度であり、非結合型分率は 46.8%であった。この値は複数のヒト *ex vivo* 試験で認められた値（全ての被験者における TAF の平均非結合型分率 14%～23%）よりも高い値であった。経口投与後の放射能の血液／血漿中濃度比はマウスの投与 3 時間以降で 1 超、ラットで 1 未満であった。イヌでは経口投与後 2 時間までは 1 未満であったが、6 時間以降に 1 以上を示した。妊娠アカゲザルに TFV を皮下投与後の胎盤通過性を評価したところ、TFV の胎盤移行性が示された。また、授乳中のアカゲザルに TFV を経口投与後の結果から、TFV の乳汁移行性が示された。

In vitro 試験での TAF のイヌ及びヒト血漿での $t_{1/2}$ は 70～75 分であった。また、イヌ及びヒト肝 S9 画分での $t_{1/2}$ は 20～30 分、小腸 S9 画分中での $t_{1/2}$ は 47～58 分で、TAF は血漿及び小腸 S9 画分に比べて、肝 S9 画分中でやや不安定であることが示された。一方、TFV はラット肝ミクロソーム並びにイヌ及びヒト肝 S9 画分、小腸 S9 画分及び血漿中で安定であった。ヒトシトクロム P450（CYP）発現系を用いた TAF の代謝に関与する CYP の同定で、TAF は CYP3A4 で緩徐に代謝されたものの、検討した他の CYP 分子種では代謝されなかった。ヒト初代肝細胞に TAF を添加したときの活性代謝物である TFV-DP 濃度は TDF 添加時に比べて 5 倍、TFV 添加時に比べて 120 倍高かった。

マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける TAF の代謝プロファイリングでは、ヒトを含めた全動物種において、内因性のヒポキサンチン、キサンチン、アラントイン及び尿酸などのプリン代謝物の生成が示された。ヒト血漿を除いた全動物種の血漿、尿及び糞中主代謝物は TFV であった。ヒト血漿中では尿酸が主代謝物であり、96 時間までの生成量は総 AUC の 73.9%であった。なお、ヒト特有の代謝物は認められなかった。TAF は、*in vitro* 試験で認められた弱い CYP3A 阻害を除いて、UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1 及び CYP を阻害しなかった。TAF は *in*

vitro 試験で弱い CYP3A 阻害を示したが、臨床薬物相互作用試験の結果から、臨床的に意味のある CYP3A 阻害剤ではないと考えられた。また、TAF は、CYP、UGT1A1 又は P 糖蛋白（P-gp）に対して、臨床的に意味のある誘導作用を示さないと考えられた。TAF は、*in vitro* 試験で検討したいずれのトランスポーターにも阻害作用を示さなかったことから、TAF はこれらのトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。TAF は、排出トランスポーターである P-gp 及び乳癌耐性蛋白（BCRP）並びに肝取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び OATP1B3 の基質となることが示唆された。*In vitro* 及び *in vivo* 試験で、消化管の排出トランスポーターを阻害したところ、TAF の吸収が若干増加した。TAF の肝細胞への取り込みには肝取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び OATP1B3 が関与しているが、その寄与は小さく、主に受動輸送を介して取り込まれることから、これらトランスポーター活性の変化は臨床的に意義のある影響を及ぼさないと考えられる。

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-TAF を経口投与後、いずれの動物種でも、放射能は糞中又は尿中に排泄された。胆管カニューレ挿入（BDC）イヌでは、高度の放射能が胆汁中に排泄されたことから、胆汁排泄がイヌでの主な排泄経路の一つであることが示された。全ての動物種で高い放射能総回収率が得られた。なお、検討した全ての動物種において、TFV の主要排泄経路は、糸球体濾過と尿細管分泌の両者による腎排泄であることが確認されている。*In vitro* 試験の結果から、ヒトにおける TFV の能動的尿細管分泌には、近位尿細管における主要な取り込みトランスポーターである有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び排出トランスポーターである多剤耐性関連蛋白質（MRP）4 の関与が示された。また、OAT3 も TFV の尿細管取り込みにおいて副次的役割を果たす可能性があると考えられた。一方、P-gp、MRP1 及び MRP2 は、いずれも TFV の尿細管分泌に関与しなかった。TFV の血液から近位尿細管細胞への移行には OAT1 及び OAT3 の関与が考えられるが、TAF はこれらトランスポーターの基質でないことから、TAF 自体が TFV の腎尿細管細胞濃度に寄与することはないので、腎尿細管細胞中の TFV 濃度は血漿中 TFV 濃度と相関していると考えられ、その血漿中 TFV 濃度も TDF 投与後よりも TAF 投与後では低い。TFV の尿細管細胞取り込みに関与する主要トランスポーターとして考えられる OAT1 について、他の腎排泄される治療薬［抗生物質、抗炎症薬、コビシスタット（COBI）やプロテアーゼ阻害剤（PI）を含めたその他の抗ウイルス薬など］との薬物間相互作用が生じる可能性を評価した。*In vitro* 試験で、これら多くの薬剤は、OAT1 を介した TFV 輸送に影響を及ぼさなかった。また、PI 及び COBI は、*in vitro* 試験で、MRP4 が関与する TFV 排泄に影響を及ぼさなかったことから、PI 及び COBI が腎近位尿細管における TFV 蓄積又は腎排泄に大きな影響を及ぼすとは考えにくい。なお、TFV は腎取り込みトランスポーターである organic cation transporter（OCT）2 及び腎排出トランスポーターである multidrug and toxin extrusion protein（MATE）1 の活性を阻害しなかった。

以上のことから、本項で示した非臨床薬物動態試験データは、TAF を B 型慢性肝炎治療薬として臨床使用する際に必要なデータであり、必要な情報については添付文書に掲載する。

表 2.6.4- 1　薬物動態試験一覧

試験の種類	試験系	投与方法	GLP 適否	被験物質	試験番号
吸収					
Caco-2 細胞を用いた膜透過性の評価	Caco-2	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2037
マウス単回経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度	マウス	経口	適	TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）	AD-120-2014
マウス（TgRasH2）単回経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度	マウス	経口	否	TAF（ヘミフマル酸塩）	AD-120-2016
ラット単回経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度	ラット	経口	適	TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）	AD-120-2015
ラット単回経口投与後の血漿中 TFV 濃度	ラット	経口	否	TAF（モノフマル酸塩）	R990130
ラット単回経口投与後の血漿中 TFV 濃度（投与媒体の検討）	ラット	経口	否	TAF（モノフマル酸塩）及び TDF	R2000065
イヌ単回経口及び静脈内投与後の血漿中 TAF、GS-7399 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度	イヌ	経口 静脈内	否	GS-7171、GS-7339、TAF、TAF（モノフマル酸塩）	99-DDM-1278-001-PK
イヌ単回経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに肝臓中 TFV、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度	イヌ	経口	否	TAF（モノフマル酸塩）	AD-120-2034
サル単回経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度	サル	経口	否	TAF（モノフマル酸塩）	P2000087
マウス 14 日間反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度	マウス	経口	否	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2006
マウス 13 週間反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度	マウス	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2007
ラット 28 日間反復経口投与後の血漿中 TFV 濃度	ラット	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	R990182-PK
ラット 26 週間反復経口投与後の血漿中 TFV 濃度	ラット	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TOX-120-001
イヌ 7 日間反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに肝臓中 TAF、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度	イヌ	経口	適	TAF（ヘミフマル酸塩）	AD-120-2033

表 2.6.4- 1　薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
イヌ 28 日間反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度	イヌ	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	D990175-PK
イヌ 9 ヵ月反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度	イヌ	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TOX-120-002
サル 28 日間反復経口投与後の血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度	サル	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）及び TFV	P2000114-PK
分布					
マウス単回経口投与後の組織内分布	マウス	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2011
ラット単回経口投与後の組織内分布	ラット	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2020
イヌ単回及び反復経口投与後の組織内分布	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2009
イヌ単回経口投与後の組織内分布	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	D990173-BP
血漿タンパク結合率（平衡透析法）	イヌ、ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2026
血漿及び血清タンパク結合率（限外ろ過法）	ヒト	*In vitro*	否	TFV	P0504-00039.1
胎盤移行	ラット	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2001
	ラット	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2002
	ウサギ	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2004
	ウサギ	経口	適	TAF（モノフマル酸塩）	TX-120-2005
	サル	皮下	否	TFV	96-DDM-1278-005
乳汁移行	サル	皮下	否	TFV	P2000116
幼若サルでの血漿中濃度	サル	皮下	否	TFV	96-DDM-1278-005
血球移行	マウス	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2011
	ラット	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2020
	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2009
代謝					
血漿中安定性	イヌ、ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2025
肝及び小腸 S9 画分中安定性	イヌ、ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2024

表 2.6.4- 1　薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
肝及び小腸 S9 画分中安定性	イヌ、ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2023
小腸 S9 画分中安定性	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2027
CYP 同定	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2004
TAF の細胞内活性化	ヒト	*In vitro*	否	TAF, TFV, TDF	AD-120-2017
代謝安定性	ラット、イヌ、ヒト	*In vitro*	否	[^{14}C]-TFV	96-DDM-1278-003
マウス代謝物同定	マウス	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2012
ラット代謝物同定	ラット	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2021
イヌ代謝物同定	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2008
TFV の細胞内活性化	サル	皮下	否	[^{14}C]-TFV	P2001025
排泄					
マウスでの尿糞中排泄	マウス	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2011
ラットでの尿糞中排泄	ラット	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2020
	ラット	静脈内	否	[^{14}C]-TFV	96-DDM-1278-001
イヌでの尿糞中排泄	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2007
	イヌ	静脈内	否	[^{14}C]-TFV	96-DDM-1278-002
ラットでの胆汁中排泄	ラット	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2020
イヌでの胆汁中排泄	イヌ	経口	否	[^{14}C]-TAF	AD-120-2007
	イヌ	静脈内	否	[^{14}C]-TFV	96-DDM-1278-002
薬物動態学的薬物相互作用					
CYP 阻害	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2003
CYP 阻害（時間依存的阻害）	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2040
CYP 阻害	ヒト	*In vitro*	否	TFV	V990172-104
UGT1A1 阻害	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2006
酵素誘導	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2005
	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2032
小腸 S9 画分での相互作用	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2027
ヒト肝細胞での代謝活性化	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2031
P-gp、BCRP の基質	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2018
COBI との相互作用	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2013

表 2.6.4- 1　薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
CsA の TAF 吸収への影響	イヌ	経口、静脈内	否	TAF	AD-120-2035
OATP1B1/1B3 の基質	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2022
肝細胞での取り込み	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2042
P-gp、BCRP、OATP1B1/1B3 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2019
P-gp の基質	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2004
BCRP の基質	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2005
Caco-2 細胞での P-gp 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-104-2002
BCRP 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2003
OATP1B1/1B3 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2006
OAT1/3、OCT1/2、MATE1、BSEP 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TAF	AD-120-2036
OCT1/2、OAT3 の基質、OAT3 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	[^{3}H]-TFV	PC-103-2001
OAT1 を介した相互作用	ヒト	*In vitro*	否	[^{3}H]-TFV	PC-104-2010
OAT3 を介した相互作用	ヒト	*In vitro*	否	[^{3}H]-TFV	PC-104-2011
OCT2 基質	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2011
OCT1、BSEP 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-236-2008
MRP1 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	PC-104-2014
MRP2/4 の基質、MRP2 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-104-2001
OCT2、MATE1 阻害作用	ヒト	*In vitro*	否	TFV	AD-104-2012

BCRP: Breast cancer resistance protein, BSEP: Bile salt export pump, CsA: Cyclosporin A, CYP: Cytochrome P450, MRP: Multi drug resistance protein, OAT: Organic anion transporter, OATP: Organic anion transporting polypeptide, OCT: Organic cation transporter, P-gp: p-glycoprotein, UGT: Uridine diphosphate glucuronosyltransferase

2　分析法

マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びサルでの *in vivo* 試験における TAF 及び TFV の吸収（TK を含む）、分布、代謝及び排泄の評価に使用した非標識体分析法並びに標識体及びその測定法について示す。

2.1　非標識体

2.1.1　血漿中 TAF 及び TFV 濃度定量法

（試験番号 BA-120-2004、添付資料 4.2.2.1.1、評価資料）
（試験番号 BA-120-2003、添付資料 4.2.2.1.2、評価資料）
（試験番号 BA-120-2005、添付資料 4.2.2.1.3、評価資料）
（試験番号 TOX-120-002、添付資料 4.2.3.2.6、評価資料）
（試験番号 010521/PHZ、添付資料 4.2.2.1.4、評価資料）

マウス、ラット及びウサギ血漿中 TAF 及び TFV 濃度同時定量法を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）法にて確立した（試験番号 BA-120-2004、BA-120-2003、BA-120-2005）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。TAF 及び TFV の内標準物質には GS-9219 及び D_6-TFV を使用した。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相に 20 mmol/L ギ酸アンモニウム及び 0.02%ギ酸を含む水、メタノール及びアセトニトリルを用いたグラジェント法で分離し、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TAF：*m/z* 477→364、GS-9219：*m/z* 527→382、TFV：*m/z* 288→176、D_6-TFV：*m/z* 294→182）で測定した。TAF の定量範囲はマウス及びラットで 10～5000 ng/mL、ウサギで 1～500 ng/mL であった。TFV についてはいずれの動物種ともに 10～5000 ng/mL であった。TAF 及び TFV はマウス血漿中では 148 日間まで、ラット血漿中では 215 日間まで、ウサギ血漿中では 191 日間まで安定であった（-60°C～-80°C）。

また、イヌ血漿中 TAF 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立し、本法を用いて TK 試験でのイヌ血漿中濃度を測定した（試験番号 TOX-120-002）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-7115 を使用した。除タンパク後の上清を LC/MS/MS にて測定した。分析カラムには C18 カラム用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TAF：*m/z* 477→346、GS-7115：*m/z* 463→346）で測定した。定量範囲は 0.999～199.864 ng/mL であった。

さらに、サル血漿中 TAF 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立し、本法を用いて TK 試験でのサル血漿中濃度を測定した（試験番号 010521/PHZ）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-7115 を使用した。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムには C18 カラム用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TAF：*m/z* 477→346、GS-7115：*m/z* 463→346）で測定した。定量範囲は 1.00～199.86 ng/mL であった。サル血漿中 TAF は-22°C で 16 日間まで安定であった。

2.1.2　血漿中 TFV 濃度定量法

2.1.2.1　　マウス及びラット

（試験番号 P4331-00008、添付資料 4.2.2.1.5、評価資料）
（試験番号 P1278-00001、添付資料 4.2.2.1.6、評価資料）
（試験番号P1278-00028、添付資料 4.2.2.1.7、参考資料 *）
（試験番号 R-BA Tox-120-001、添付資料 4.2.2.1.8、評価資料）
（試験番号 001092/NGE、添付資料 4.2.2.1.9、評価資料）

マウス血漿中 TFV 濃度定量法を LC／蛍光検出法にて確立した（試験番号 P4331-00008）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-0393 を用いた。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解、誘導体化した。分析カラムには C18 カラム、移動相に 20 mmol/L リン酸カリウム緩衝液を含む 5.1%アセトニトリル（pH6.0）を用い、蛍光検出器（励起波長：236 nm、蛍光波長：424 nm）にて測定した。定量範囲は 25～1000 ng/mL であった。

また、ラット血漿中 TFV 濃度定量法を LC／蛍光検出法にて確立した。（試験番号 P1278-00001）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-0393 を用いた。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解、誘導体化した。分析カラムには C18 カラム、移動相にアセトニトリル：20 mmol/L リン酸カリウム緩衝液／5 mmol/L テトラブチルアンモニウム二水素リン酸（pH6.0）（6：4）を用い、蛍光検出器（励起波長：236 nm、蛍光波長：424 nm）にて測定した。定量範囲は 25～1000 ng/mL であった。

さらに、ラット血漿中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した。

最初に確立した定量法では抗凝固剤にクエン酸を用いていたため（試験番号 P1278-00028）、ヘパリン（試験番号 P1278-00028 及び 001092/NGE）及び EDTA（試験番号 R-BA Tox-120-001）を用いたときの日内変動及び安定性（ヘパリンのみ）も評価した。本試験では、ヘパリン血漿を用いたマウス血漿中 TFV 濃度定量法の簡易バリデーションも実施した（試験番号 P1278-00028）。

血漿試料は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビルを用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相にメタノール：25 mmol/L 酢酸アンモニウム（6：94）を用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162）で測定した。定量範囲は 2.99～199.63 ng/mL であり、ラット血漿中 TFV はクエン酸を用いたときは-22°C で 114 日間まで安定であった。また、ヘパリンを用いたときは-22°C で 106 日間まで、-80°C で 96 日間まで安定であった。マウス血漿中 TFV は-20°C で 7 日間まで安定であった。

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

2.1.2.2　　ウサギ

（試験番号 P4331-035-3、添付資料 4.2.2.1.10、評価資料）

ウサギ血漿中 TFV 濃度定量法を LC／蛍光検出法にて確立した。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-0393 を用いた。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解、誘導体化した。分析カラムには C18 カラム、移動相に 20 mmol/L リン酸カリウム緩衝液を含む 5.1%アセトニトリル（pH6.0）を用い、蛍光検出器（励起波長：236 nm、蛍光波長：424 nm）にて測定した。定量範囲は 25～1000 ng/mL であった。

2.1.2.3　　イヌ

（試験番号P1278-00017、添付資料 4.2.2.1.11、参考資料 *）

（試験番号 P4331-0037、添付資料 4.2.2.1.12、評価資料）

初期のイヌ血漿中 TFV 濃度定量法は LC／蛍光検出法にて確立した（試験番号 P1278-00017）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-0393 を用いた。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解、誘導体化した。分析カラムに C18 カラム、移動相にアセトニトリル：20 mmol/L リン酸カリウム緩衝液（pH6.0）／5 mmol/L テトラブチルアンモニウム二水素リン酸（6：4）を用い、蛍光検出器（励起波長：236 nm、蛍光波長：424 nm）にて測定した。定量範囲は 25～1000 ng/mL であった。

その後、イヌ血漿中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した（試験番号 P4331-0037）。

血漿試料は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビルを用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相にメタノール：25 mmol/L 酢酸アンモニウム（6：94）を用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162）で測定した。定量範囲は 2.99～199.26 ng/mL であった。

2.1.2.4　　サル

（試験番号 P1278-00001、添付資料 4.2.2.1.6、評価資料）

（試験番号 P1278-00029、添付資料 4.2.2.1.13、参考資料*）

初期のサル血漿中 TFV 濃度定量法は LC／蛍光検出法にて確立した（試験番号 P1278-00001）。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。内標準物質には GS-0393 を用いた。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解、誘導体化した。分析カラムに C18 カラム、移動相にアセトニトリル：20 mmol/L リン酸カリウム緩衝液（pH6.0）／5 mmol/L テトラブチルアンモニ

---

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

ウム二水素リン酸（6：4）を用い、蛍光検出器（励起波長：236 nm、蛍光波長：424 nm）にて測定した。定量範囲は 25～1000 ng/mL であった。

その後、サル血漿中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立し、本法を用いて TK 試験でのサル血漿中濃度を測定した（試験番号 P1278-00029）。血漿試料は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビルを用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相にメタノール：25 mmol/L 酢酸アンモニウム（6：94）を用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162）で測定した。定量範囲は 1.00～498.14 ng/mL であり、サル血漿中 TFV は-22℃で 22 日間まで安定であった。

2.1.3　乳汁中 TFV 定量法

2.1.3.1　　ラット

（試験番号P1278-00034、添付資料 4.2.2.1.14、参考資料 *）

ラット乳汁中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した。

乳汁試料は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビルを用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相にメタノール：25 mmol/L 酢酸アンモニウム（6：94）を用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162）で測定した。定量範囲は 9.96～996.28 ng/mL であった。

2.1.4　PBMC 中 TFV 濃度定量法

2.1.4.1　　イヌ

（試験番号 993680/MYS、添付資料 4.2.2.1.15、評価資料）
（試験番号 AA01240-RQZ、添付資料 4.2.2.1.16、評価資料）

イヌ末梢血単核球（PBMC）中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した（試験番号 993680/MYS）。

PBMC は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビルを用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相にメタノール：25 mmol/L 酢酸アンモニウム（6：94）を用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162）で測定した。定量範囲は 2.00～199.63 ng/mL であった。

---

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

さらにイヌ PBMC 及び 60%メタノール含有 PBMC 中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した（試験番号 AA01240-RQZ）。

PBMC 及び 60%メタノール含有 PBMC は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビル及び D_6-TFV を用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラムを用い、ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162、D_6-TFV：*m/z* 294→182）で測定した。定量範囲は PBMC 中で 2.99～598.82 ng/mL、60%メタノール含有 PBMC で 3.00～599.99 ng/ml であった。

イヌ PBMC 及び 60%メタノール含有 PBMC 中 TFV は-20°C でそれぞれ 18 日間及び 25 日間まで安定であった（試験番号 AA01240-RQZ）。

2.1.4.2　　サル

（試験番号 AA01240-RQZ、添付資料 4.2.2.1.16、評価資料）

サル PBMC 中 TFV 濃度定量法を LC/MS/MS 法にて確立した。

PBMC は固相抽出法にて前処理を行った。内標準物質にはアデホビル及び D_6-TFV を用いた。固相抽出後の溶出液を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラムを用いた。ターボイオンスプレーのポジティブイオンモード（TFV：*m/z* 288→176、アデホビル：*m/z* 274→162、D_6-TFV：*m/z* 294→182）で測定した。定量範囲は 2.99～598.82 ng/mL であった。サル PBMC 中 TFV は-20°C で 32 日間まで安定であった。

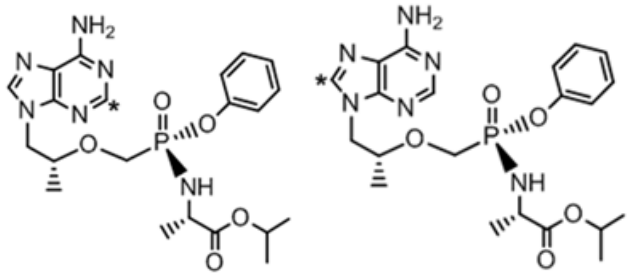
2.2　標識体

2.2.1　標識化合物

非臨床薬物動態試験の *in vivo* 試験で使用した放射性同位元素標識化合物（[^{14}C]-TAF 及び[^{14}C]-TFV）の構造及び標識位置を図 2.6.4- 1 及び図 2.6.4- 2 に示す。また、各試験で使用した標識化合物の比放射活性及び放射化学的純度を表 2.6.4- 2 及び表 2.6.4- 3 に示す。

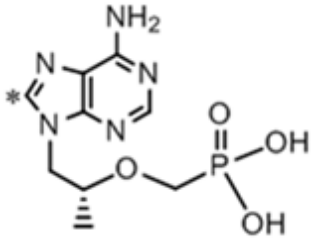
図 2.6.4- 1　[^{14}C]-TAFの構造式

(1)　(2)



*：^{14}C 標識位置

図 2.6.4- 2　[^{14}C]-TFVの構造式



*：^{14}C 標識位置

表 2.6.4- 2　非臨床薬物動態試験で使用した[^{14}C]-TAFの比放射活性及び放射化学的純度

Lot Number	Specific activity	Radiochemical purity	Study	Structure
[redacted]	57.1 mCi/mmol	99.6%	AD-120-2011 AD-120-2009 AD-120-2012 AD-120-2008 AD-120-2007	(1)
[redacted]	57.0 mCi/mmol	99.3%	AD-120-2011 AD-120-2020 AD-120-2012 AD-120-2021	(1)
[redacted]	53 mCi/mmol	99.9%	D990173-BP	(2)

表 2.6.4- 3　非臨床薬物動態試験で使用した[^{14}C]-TFVの比放射活性及び放射化学的純度

Lot Number	Specific activity	Radiochemical purity	Study
[redacted]	26 mCi/mmol	99.8%	96-DDM-1278-003 96-DDM-1278-001
[redacted]	5 μCi/mg	unknown	96-DDM-1278-002

2.2.2　分析法

各試験での放射能濃度は、液体シンチレーションカウンター（LSC、Perkin Elmer Model 2900TR：PerkinElmer Inc.）で測定した。試料中のクエンチングは外部標準法により自動補正した。組織内放射能濃度は、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA、MCID™ Analysis software：InterFocus Imaging Ltd.）で定量を行った。TAF 及び代謝物の同定は、逆相クロマトグラフィーで分離し、ラジオフロー検出器を備えた LC/MS/MS（LC/MS/RFD）法で行った。

3　吸収

3.1　*In vitro*

（試験番号 AD-120-2037、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料）

TAF の双方向の膜透過性についてヒト結腸癌由来の細胞株（Caco-2）単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した。Caco-2 単層膜細胞の頂端膜側及び基底膜側に TAF が 10、100 及び 1000 µmol/L になるように添加し、頂端膜側から基底膜側（forward）及び基底膜側から頂端膜側（reverse）の膜透過性を検討した。試料中 TAF 濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。TAF の膜透過性を表 2.6.4- 4 及び 2.6.5.3.A 項に示す。

TAF の forward 方向の膜透過性は濃度依存的に増加し、efflux ratio は低下した。また、P-gp の阻害剤であるシクロスポリン A（CsA）を添加したところ、TAF の forward 方向の膜透過性が増大し、efflux ratio が低下した。これらのことから、TAF の膜透過に飽和性の排出トランスポーターが関与していると考えられた。なお、TAF 100 µmol/L での forward 方向のみかけの透過速度（P_{app}）は 0.63 x 10^{-6} cm/s であり、efflux ratio は 13.6 であった。

表 2.6.4- 4　Caco-2 単層膜細胞を用いたTAFの膜透過性

Compound	Inhibitor	Concentration (µmol/L)	Mean P_{app} (x10^{-6} cm/s)		Efflux Ratio
			Forward	Reverse	
TAF	None	10	0.34	6.98	20.2
TAF	None	100	0.63	8.47	13.6
TAF	None	1000	1.08	5.86	6.28
TAF	10 µmol/L CsA	10	1.51	1.34	1.00[a]

CsA = cyclosporine A, P_{app} = apparent permeability
Mean of n=4
a: n=3

(Source AD-120-2037 Table1)

3.2　*In vivo*

3.2.1　単回投与

3.2.1.1　マウス

（試験番号 AD-120-2014、添付資料 4.2.2.2.2、評価資料）
（試験番号 AD-120-2016、添付資料 4.2.2.2.3、評価資料）

マウスに TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK を検討した（試験番号 AD-120-2014）。

CD-1 マウス（雄 3 匹／時点、体重：20.9～31.6 g、週齢：5～6 週齢）に TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を 10、30 及び 100 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）を含む逆浸透（RO）水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 5 及び 2.6.5.3B 項に示した。

マウス血漿中 TAF は用量依存的に検出されたが、ほとんどの採血時点で定量下限（LLOQ）未満であったため消失半減期（$t_{1/2}$）を算出することはできなかった。TFV の曝露は 10～100 mg/kg で用量依存的に増加したが、その増加率は用量の増加比を上回っていた。2 種類の異なるフマル酸塩を投与後の TFV の C_{max} 及び 0 時間から t 時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）は同程度であり、PK プロファイルは類似していた。

また、マウスに TAF（ヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK を検討した（試験番号 AD-120-2016）。TgRasH2（001178-W）野生型マウス（雌雄各 4 匹／時点、体重：16.1～33.0 g、週齢：約 7 週齢）に TAF（ヘミフマル酸塩）を 10、30 及び 100 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む RO 水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 6 及び 2.6.5.3C 項に示した。

TgRasH2 野生型マウスに TAF（ヘミフマル酸塩）を経口投与後の血漿中 TAF は速やかに TFV に変換された。TFV の曝露は 10～100 mg/kg の範囲で用量依存的に増加したが、その増加率は用量の増加比を上回っていた。TFV の C_{max} 及び AUC_{0-t} に明らかな性差は認められず、その差は 2 倍未満であった。

表 2.6.4- 5　CD-1 マウスにTAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の PKパラメーター

Test Article	TAF (monofumarate)						TAF (hemifumarate)					
Dose (mg/kg)	10		30		100		10		30		100	
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
C_{max} (ng/mL)	5.53	106	NA	440	37.1	1827	NA	85.4	10.3	383	34.7	2152
t_{max} (h)	0.083	0.50	NA	0.25	0.083	0.75	NA	0.50	4.00	0.50	0.25	1.50
$t_{½}$ (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.16	NA	10.1	NA	NA
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	455	NA	2005	26.0	10643	NA	493	NA	2477	11.3	10866

NA = not applicable

(Source: AD-120-2014, Appendix5, Table1 and 2)

表 2.6.4- 6　TgRasH2 野生型マウスにTAF（ヘミフマル酸塩）を経口投与後の PKパラメーター

Dose (mg/kg)	10				30				100			
Analyte	TAF		TFV		TAF		TFV		TAF		TFV	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	175	100	8.80	117	615	421	648	280	1988	1733
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.50	0.083	0.5	0.25	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50
$t_{½}$ (h)	NA	NA	9.78	8.20	NA	NA	9.51	10.9	NA	NA	8.04	11.0
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	NA	735	354	NA	NA	2639	2053	194	104	10026	7131

F = female, M = male, NA = not applicable

(Source: AD-120-2016, Appendix5, Table1 and 2)

3.2.1.2　　ラット

（試験番号 AD-120-2015、添付資料 4.2.2.2.4、評価資料）
（試験番号 R990130、添付資料 4.2.2.2.5、評価資料）
（試験番号 R2000065、添付資料 4.2.2.2.6、評価資料）

ラットに TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の PK を検討した（試験番号 AD-120-2015）。

Sprague-Dawley（SD）ラット（雄 3 匹／群、体重：298～337 g、週齢：9 週齢）に TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を 5、25 及び 100 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む RO 水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12 及び 24 時間後に採

血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 7 及び 2.6.5.3D 項に示した。

TAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後の血漿中 TAF は速やかに TFV に変換され、全ての採血時点で LLOQ 未満であった。TFV の C_{max} 及び AUC_{0-t} は 5～100 mg/kg の用量範囲で用量依存的に増加したが、その増加率は用量の増加比を上回った。AUC_{0-t} で約 30%の違いがみられた以外は、塩の違いによる PK パラメーターへの影響はみられなかった。マウスでの PK 試験の結果と合わせて考えると、TAF（モノフマル酸塩）及び TAF（ヘミフマル酸塩）投与時の TFV の PK パラメーターに塩の影響はないことが示唆された。

また、ラットに TAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の PK を検討した（試験番号 R990130）。

SD ラット（雄 4 匹／群、体重：237～266 g）に TAF（モノフマル酸塩）を 6.25、25、100 及び 400 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸を用い、投与容量 20 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TFV 濃度を LC／蛍光検出法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.3E 項に示した。

TAF は投与後速やかに TFV に変換され、血漿中 TFV の t_{max} は 30 分以下であった。C_{max} では 6.25～400 mg/kg、AUC では 25～400 mg/kg の範囲で線形性がみられた。

さらに、ラットに TAF（モノフマル酸塩）又は TDF を経口投与後の PK を検討した（試験番号 R2000065）。

SD ラット（雄 3 匹／時点、体重：204～250 g）に TAF（モノフマル酸塩）及び TDF を 400 mg/kg で絶食下に単回経口投与した。TAF（モノフマル酸塩）の投与媒体には 50 mmol/L クエン酸又は CMC を用い、投与媒体が PK に及ぼす影響を検討した。血漿中 TFV 濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.3F 項に示した。

TAF 及び TDF 投与後の AUC_{0-t}、0 時間から無限時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）、見かけのクリアランス（CL/F）及び $t_{1/2}$ に投与媒体の違いによる差はみられなかった。一方、CMC を用いたときの C_{max} は 50 mmol/L クエン酸を用いたときよりも高かった。ラットに TAF を 400 mg/kg で経口投与したときの C_{max} 及び AUC は、TDF を 400 mg/kg で投与したときに比べて 2～3 倍高値であった。

表 2.6.4- 7　ラットにTAF（モノフマル酸塩及びヘミフマル酸塩）を経口投与後のPKパラメーター

Test Article	TAF (monofumarate)			TAF (hemifumarate)		
Dose (mg/kg)	5	25	100	5	25	100
Analyte	TFV	TFV	TFV	TFV	TFV	TFV
C_{max} (ng/mL)	32.5	199	1240	39.3	364	1670
t_{max} (h)	0.667	0.583	0.833	0.583	0.833	0.667
$t_{½}$ (h)	NA	11.2	10.3	NA	7.89	7.85
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	122	1395	7771	88.5	1810	9759

(Source: AD-120-2015 Appendix 5, Table1)

3.2.1.3　　イヌ

（試験番号 99-DDM-1278-001-PK、添付資料 4.2.2.2.7、評価資料）
（試験番号 AD-120-2034、添付資料 4.2.2.2.8、評価資料）

TAF の吸収に及ぼす立体配置、塩、食事の影響を検討した。また、F を算出した（試験番号 99-DDM-1278-001-PK）。

ビーグル犬（雄 5 匹／群）に絶食下で GS-7171（ラセミ混合物）を 16.0 mg/kg、GS-7339（ジアステレオマーB）を 18.0 mg/kg、TAF（ジアステレオマーA）を 18.0 mg/kg、TAF（モノフマル酸塩）を 4.80、5.00（絶食及び摂食下）及び 20 mg/kg で経口投与した。また、TAF（モノフマル酸塩）を 6.20 mg/kg で絶食下に静脈内投与した。投与媒体には経口投与では 50 mmol/L クエン酸を、静脈内投与では生理食塩液を用い、投与容量 1.6～1.8 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 2.5（静脈内投与のみ）、5、15 及び 30 分並びに 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、投与前並びに投与 2、8 及び 24 時間後に得た血液から PBMC を調製した。血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度は LC／蛍光検出法にて測定した。なお、GS-7171 投与後の血漿試料ではジアステレオマーA 及び B を分離定量した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.3G 項に示した。

TAF 及びそのジアステレオマーは経口投与後速やかに吸収され、血漿中 TAF の t_{max} は 0.5 時間未満であった。その後、$t_{1/2}$ 0.2～0.9 時間で消失した。血漿中 TFV は投与後 0.6～1.9 時間に C_{max} に達し、10～23 時間の $t_{1/2}$ で消失した。TAF（ジアステレオマーA）又は GS-7339（ジアステレオマーB）投与後の血漿中 TAF 及び GS-7339 の曝露量は同程度であったが、GS-7171（ラセミ混合物）投与後の血漿中のジアステレオマーB 曝露量はジアステレオマーA 曝露量の約 3 倍であった。TAF 又は GS-7339 を投与したときの血漿中 TFV 曝露量は同程度であった。投与 2 時間後の PBMC 中 TFV 濃度は血漿中 TFV 濃度の 10～50 倍であった。その後血漿中 TFV 濃度は減少したが、PBMC 中 TFV 濃度は投与後 24 時間まで上昇した。TAF 投与後の PBMC 中 TFV 曝露量は、GS-7339 投与後の約 4 倍であった。TAF と TAF（モノフマル酸塩）の血漿中 TAF 及び TFV 並びに PBMC 中 TFV の PK パラメーターは同程度であった。絶食下での TAF（モノフマル酸塩）経

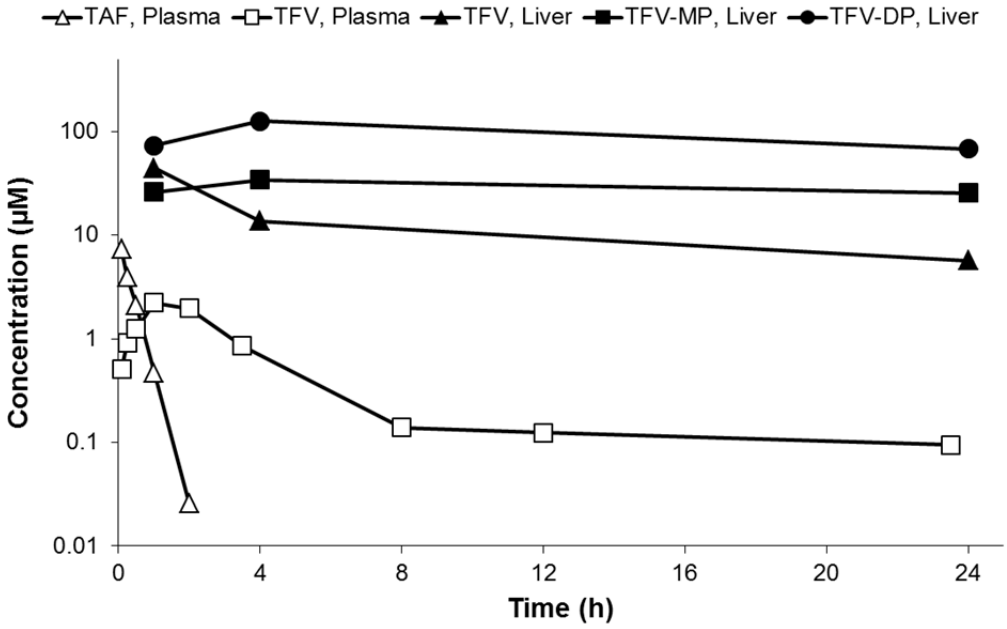
ロ投与後の F は 41.2%～76.3%であり、絶食下のイヌでは、血漿中の TAF 及び TFV の曝露量が、摂食時に比べて約 2.5 倍以上高値であった（摂食時の F は 16.5%及び 5.08%）。

また、イヌに TAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の血漿及び肝臓中の PK を検討した（試験番号 AD-120-2034）。

ビーグル犬（雄 6 匹／群、体重：14 kg）に TAF（モノフマル酸塩）を 10 mg/kg で絶食下に経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。投与 0.083、0.25、0.5、1、2、3.5、8、12 及び 23.5 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、投与 1、4 及び 24 時間後に肝臓を採取した。血漿中 TAF 及び TFV 並びに肝臓中 TFV、テノホビルニリン酸（TFV-MP）及び TFV-DP 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿中及び肝臓中濃度推移を図 2.6.4- 3 に、ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.3H 項に示した。

TAF は速やかに吸収され、血漿中 TAF の t_{max} は 0.08 時間であった。その後、0.24 時間の $t_{1/2}$ で速やかに消失した。血漿中には主に TFV が検出され、C_{max} は 0.64 µg/mL（2.23 µmol/L）であった。肝臓中主代謝物は活性代謝物である TFV-DP であり、投与 4.0 時間後に C_{max} 56.4 µg/mL（126 µmol/L）に達した。*In vitro*（本項 5.1.3 章）及び *in vivo* 試験で得られた肝臓内での TFV-DP の長い $t_{1/2}$ から、臨床で予定されている 1 日 1 回の用法が裏付けられた。

図 2.6.4- 3　イヌに TAF（モノフマル酸塩）を投与後の血漿中 TAF 及び TFV 並びに肝臓中 TFV、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度推移



(Source AD-120-2034, Figure 2 and 3)

3.2.1.4　　サル

（試験番号 P2000087、添付資料 4.2.2.2.9、評価資料）

サルに TAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の PK 及び PBMC 中濃度を検討した。

アカゲザル（雌雄各 3 匹／群、体重：雄 3.8～5.0 kg、雌 3.8～4.5 kg、年齢：2.7～4.9 ヵ年）に TAF（モノフマル酸塩）を 0.5、5.0 及び 50 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与前並びに投与 0.25、0.5、1、1.5、2、6、8、12、24、36、48、72 及び 96 時間後に採血し、血漿試料を得た。さらに、5.0 及び 50 mg/kg 投与群では投与 2、24 及び 96 時間後に血液を採取し、PBMC を調製した。血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 8 及び 2.6.5.3I 項に示した。

血漿中 TAF 及び TFV 濃度は速やかに上昇し、t_{max} はそれぞれ約 0.5 時間及び約 1 時間であった。TAF 及び TFV の曝露量（C_{max}、AUC_{0-t} 及び AUC_{inf}）は用量依存的に増加したが、その増加率は用量の増加比を上回った。血漿中 TFV では 5～50 mg/kg の用量範囲では線形性がみられた。TFV のリン酸化代謝物を TFV に変換するため、検体を酸性ホスファターゼで処理し、その前後における PBMC 中 TFV 濃度を測定した。PBMC 中 TFV は 96 時間まで検出され、PBMC 中での消失は血漿中よりも遅かった。以上のように、酸性ホスファターゼで処理した検体での TFV 濃度が有意に高値であったことから、PBMC 中の TFV 関連物質の大部分は、リン酸化体であることが示唆された（表 2.6.4- 9）。

表 2.6.4- 8　サルにTAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の血漿中TAF及びTFVのPKパラメーター

Dose (mg/kg)	0.5	5	50	0.5	5	50
Analyte	TAF			TFV		
C_{max} (ng/mL)	2.79	125	4143	7.72	161	1326
t_{max} (h)	0.38	0.8	0.5	1.0	1.33	1.0
$t_{½}$ (h)	0.61	0.23	0.40	4.62	9.92	17.33
AUC_{0-last} (ng·h/mL)	1.22	95.1	3811	39.9	1037	9934
AUC_{inf} (ng·h/mL)	2.47	80.0	3846	52.7	1069	10250

Mean (n=6)
(Source P2000087 Tabulated summary)

表 2.6.4- 9　サルにTAF（モノフマル酸塩）を 5 及び 50 mg/kgで経口投与後のPBMC中TFV濃度

	TFV PBMC Levels (ng/10^6 Cells)			
	Without Phosphatase Treatment		With Phosphatase Treatment	
Dose (mg/kg)	5	50	5	50
2 h	0.47	17.0	0.73	34.2
24 h	0.06	6.82	0.62	20.1
96 h	BLQ	3.03	0.18	8.68

BLQ = below the quantification limit
Mean (n=6)
(Source P2000087 Tabulated summary)

3.2.2　反復投与

3.2.2.1　　マウス

（試験番号 TX-120-2006、添付資料 4.2.3.2.1、参考資料）
（試験番号 TX-120-2007、添付資料 4.2.3.2.2、評価資料）

マウスに TAF を 14 日間又は 13 週間反復経口投与する毒性試験で TK 試験を実施した。

CD-1 マウス（雌雄各 3 匹／時点、体重：雄 28.8～42.0 g、雌 19.9～27.6 g、週齢：5.8～6.6 週齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 100、500 及び 1000 mg/kg/日で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した（試験番号 TX-120-2006）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む RO 水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。100 及び 500 mg/kg/日群では投与 1 及び 14 日目の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、4、8 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。1000 mg/kg/日群では投与 1 日目の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、4、8 及び 24 時間後、投与 8 日目の投与前並びに投与 0.25、0.5 及び 1 時間後に採血を実施した。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4A 項に示した。

500 又は 1000 mg/kg/日群のマウスは早期に死亡したため、100 mg/kg/日群のみを評価した。100 mg/kg/日群での投与 14 日目の TAF の C_{max} は、雌雄でそれぞれ 2.89 及び 27.1 ng/mL であった。明確な消失相が得られなかったため、AUC_{0-24} を算出することはできなかった。TAF は速やかに TFV に変換され、100 mg/kg/日群での投与 14 日目の TFV の C_{max} は雌雄でそれぞれ 1050 及び 1438 ng/mL であった。また、AUC_{0-24} は雌雄でそれぞれ 5506 及び 5973 ng· h/mL であり、TFV の PK パラメーターに性差は認められなかった。

また、CD-1 マウス（雌雄各 3 匹／群、体重：雄 25.1～37.1 g、雌 21.7～33.7 g、週齢：5～6 週齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 10、30 及び 100 mg/kg/日で 13 週間反復経口投与した（試験番号 TX-120-2007）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む RO 水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 1 日目及び 13 週目の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、4、8 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS

法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4B 項に示した。

マウスに経口投与後、TAF は速やかに TFV に変換された。10～100 mg/kg/日の範囲において、TFV 曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は用量依存的に増加したが、増加率は用量の増加比を上回っていた。TFV の C_{max} 及び AUC_{0-t} の性差は、2 倍未満であった。反復投与による TFV の蓄積は認められなかった。

3.2.2.2　　ラット

（試験番号 R990182-PK、添付資料 4.2.3.2.3、評価資料）
（試験番号 TOX-120-001、添付資料 4.2.3.2.4、評価資料）

ラットに TAF を 28 日間又は 26 週間反復経口投与する毒性試験で TK 試験を実施した。

SD ラット（雌雄各 4 匹／時点、体重：雄 337～399 g、雌 206～246 g、週齢：約 10 週齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 1.5、6.25、25、100 及び 400 mg/kg/日で 28 日間反復経口投与した（試験番号 R990182-PK）。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸を用い、投与容量 15 mL/kg で投与した。投与 1 及び 28 日目の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4C 項に示した。

投与 1 日目及び 28 日目のいずれにおいても、雌雄ともに非線形性が認められ、曝露量の増加率は用量の増加比を上回った。なお、いずれの用量群においても 28 日間の反復投与による蓄積性は認められなかった（蓄積率 0.96～1.11）。

また、SD ラット（雌雄各 4 匹／時点、体重：雄 161～209 g、雌 132～171 g、週齢：6 週齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 5、25 及び 100 mg/kg/日で 26 週間反復経口投与した（試験番号 TOX-120-001）。投与媒体には 0.5%ポリソルベート 20、0.5%CMC 及び 0.9%ベンジルアルコールを含む懸濁液を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 1 日目、13 週目及び 26 週目の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4D 項に示した。

TFV の C_{max} 及び AUC は、5～100 mg/kg/日の範囲で用量に比例して増加した。PK パラメーターに性差は認められなかった。13 週目及び 26 週目の TFV の AUC は 1 日目に比べて若干高値であったことから、反復投与による若干の蓄積があることが示唆された。

3.2.2.3　　イヌ

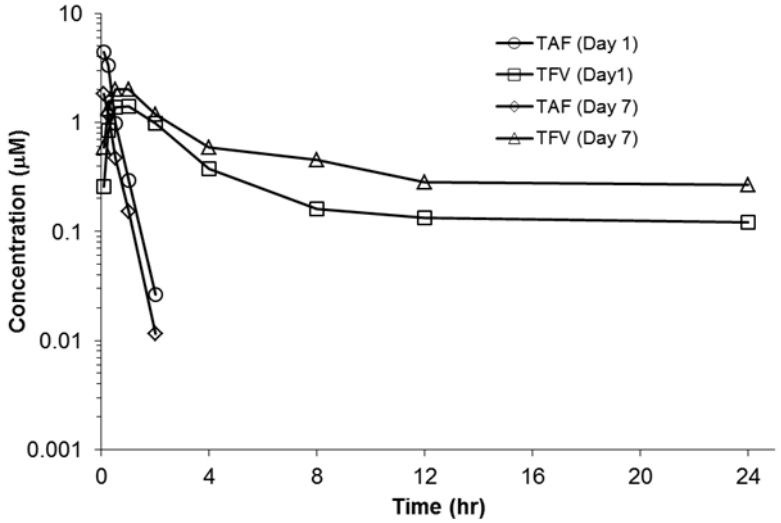
（試験番号 AD-120-2033、添付資料 4.2.2.2.10、評価資料）
（試験番号 D990175-PK、添付資料 4.2.3.2.5、評価資料）
（試験番号 TOX-120-002、添付資料 4.2.3.2.6、評価資料）

イヌに TAF を 7 日間反復経口投与後の PK を検討した。また、イヌに TAF を 28 日間及び 9 ヵ月間反復経口投与する毒性試験で TK 試験を実施した。

ビーグル犬（雄 4 匹／群、体重：約 10.2 kg）に TAF（ヘミフマル酸塩）を 8.29 mg/kg/日で 7 日間反復経口投与した（試験番号 AD-120-2033）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。投与 1 及び 7 日目の投与前並びに投与 0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、投与 7 日目の投与 4 及び 24 時間後に肝臓を摘出した。血漿及び肝臓中 TAF 及び TFV 並びに肝臓中 TFV-MP、TFV-DP、アデノシン一リン酸、アデノシン二リン酸及びアデノシン三リン酸濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿中 TAF 及び TFV 濃度推移を図 2.6.4- 4 に、ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4E 項に示した。また、肝臓中 TFV、TFV-MP 及び TFV-DP 濃度を図 2.6.4- 5 に示した。

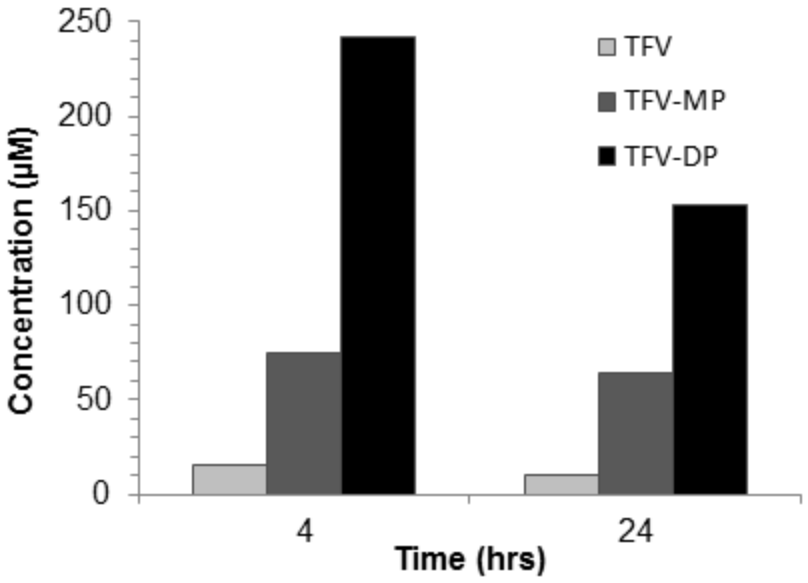
投与 1 日目及び 7 日目ともに TAF は速やかに吸収され、$t_{1/2}$ は短く、0.3 時間であった。TAF の速やかな消失に伴い、TFV が増加した。血漿中には主に TFV が検出され、投与 1 日目及び 7 日目の C_{max} は、それぞれ 0.42 µg/mL（1.47 µmol/L）及び 0.61 µg/mL（2.12 µmol/L）であった。イヌの肝臓では、活性代謝物である TFV-DP が効率的に産生され、7 日目の投与 4 時間及び 24 時間後の肝臓中 TFV-DP 濃度は、それぞれ 242 及び 153 µmol/L であった。

図 2.6.4- 4　イヌにTAF（ヘミフマル酸塩）を反復投与 1 及び 7 日目の血漿中TAF及びTFV濃度推移



(Mean, n=2)
(Source AD-120-2033 Figure2)

図 2.6.4- 5　イヌにTAF（ヘミフマル酸塩）を反復投与 7 日目の肝臓中TFV、TFV-MP及びTFV-DP濃度



(Mean, n=2)
(Source AD-120-2033 Figure3)

また、ビーグル犬（雌雄各 4 匹／群、体重：雄 7.5～10.5 kg、雌 6.7～8.8 kg、月齢：7～8 ヵ月）に TAF（モノフマル酸塩）を 0、0.1、0.3、1.0、3.0 及び 10 mg/kg/日で 28 日間反復経口投与した（試験番号 D990175-PK）。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 1 日目及び 28 日目の投与前並びに投与 5、15、30 分、1、2、4、6、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、投与 8、15 及び 22 日目の投与前にも採血を実施した。血漿中 TAF 及び PBMC 中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。また、血漿中 TFV 濃度は LC/FR 法で測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4F 項に示した。

TAF（モノフマル酸塩）を 10 mg/kg/日で反復投与後の TAF の PK パラメーターには蓄積性が認められ、1 日目及び 28 日の AUC（中央値）はそれぞれ 0.454 及び 0.985 μg·h/mL、C_{max}（中央値）は 582 及び 1280 ng/mL、$t_{1/2}$（中央値）は 18 分及び 28 分であった。TFV の C_{max} に蓄積性はみられなかったが、1 投与間隔あたりの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\tau}$）（中央値）は投与 1 日目及び 28 日目でそれぞれ 2.52 及び 5.26 μg· h/mL であり、反復投与による蓄積性がみられた。投与 1 日目及び 28 日目の TFV の $t_{1/2}$（中央値）は 14.2 時間から 34.6 時間に延長した。TFV の C_{max} には用量比例性がみられた。PBMC 中 TFV 濃度と用量との間には線形性が認められなかったが、PBMC 中 TFV 濃度と対応するトラフ血漿中濃度との間には線形の相関性が認められた。PBMC 中 TFV 濃度は、対応する血漿中濃度の約 100 倍高い値であった。

さらに、ビーグル犬（雌雄各 6～8 匹／群、体重：雄 6.6～7.9 kg、雌 5.3～6.8 kg、月齢：5～6 ヵ月）に TAF（モノフマル酸塩）を 0、2、6 及び 18 mg/kg/日で 9 ヵ月反復経口投与した（試験番号 TOX-120-002）。なお、18 mg/kg/日群で、重度の一般状態の悪化並びに体重及び摂餌量の低値が認められたため、雌雄それぞれ試験第 51 及び 45 日に 12 mg/kg/日に減量した。

投与媒体には 0.5%ポリソルベート 20、0.5%CMC 及び 0.9%ベンジルアルコールを含む懸濁液を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 1 日目、13 週目及び 39/40 週目の投与前並びに投与 30 分、1、2、4、8、12、24、48 及び 72 時間後に採血し、血漿試料を得た（48 及び 72 時間は 12/18 mg/kg 群の回復動物のみ）。また、投与 39/40 週目の投与前並びに投与 2 及び 24 時間後に PBMC 用の採血を行った。さらに回復動物については、39/40 週目の投与 48 及び 72 時間後並びに投与終了 1 及び 2 週間後にも PBMC 用の採血を行った。血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4G 項に示した。

経口投与後の TAF は速やかに吸収されて TFV に変換され、TAF 及び TFV の t_{max} は、それぞれ 0.5 及び 1 時間であった。TAF は血漿中から速やかに消失し、$t_{1/2}$ は 1 時間未満であった。投与 1 日目の TFV の $t_{1/2}$（中央値）は、25～31 時間であった。経口投与後の TAF 及び TFV の PK パラメーターに性差はみられなかった。2～18/12 mg/kg/日の用量範囲で、TAF の C_{max} 及び AUC の増加率は、用量の増加比を上回った。TFV の C_{max} 及び AUC はおおむね用量に比例して増加した。反復投与後、若干の TFV の蓄積が認められた（約 3 倍）。PBMC 中 TFV 濃度は全ての用量群において、投与 24 時間後の時点でも測定可能であった。PBMC 中 TFV 濃度が投与 72 時間後まで測定された回復群のイヌにおける、PBMC 中 TFV の $t_{1/2}$ は 31 時間（中央値）であり、TFV の血漿中 $t_{1/2}$ と同程度であった。39/40 週目において、用量補正した総 TFV の AUC の増加率は用量の増加比を上回った。

3.2.2.4　　サル

（試験番号 P2000114-PK、添付資料 4.2.3.2.7、評価資料）

サルに TAF 又は TFV を 28 日間反復経口投与する毒性試験で TK 試験を実施した。

アカゲザル（雌雄各 3 匹／群、体重：雄 2.6～5.2 kg、雌 2.6～5.3 kg、年齢：2.2～5.2 ヵ年）に TAF（モノフマル酸塩）を 3 及び 30 mg/kg/日並びに TFV を 15 mg/kg/日で絶食下に 28 日間反復経口投与した。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 1 日目の投与 1、4、12 及び 24 時間後、投与 14 日目の投与前、投与 28 日目の投与前並びに投与 0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、投与 14 日及び 28 日目の投与前に PBMC 用の採血を実施した。血漿中 TAF 及び TFV 濃度並びに PBMC 中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4H 項に示した。

PK パラメーターに性差は認められなかった。TAF（モノフマル酸塩）を経口投与後の TFV の PK パラメーターは、投与 1 日目には線形性を示したが、投与 28 日目では用量の増加比を上回った。TAF（モノフマル酸塩）又は TFV を反復投与後、統計学的に有意な TFV の蓄積性は認められなかった。PBMC 中 TFV 濃度は、TAF（モノフマル酸塩）30 mg/kg/日群でのみ検出され、投与 14 日目及び 28 日目で 72.3 及び 27.2 µg/mL であった。

4　分布

4.1　組織内分布試験

4.1.1　マウス

（試験番号 AD-120-2011、添付資料 4.2.2.3.1、評価資料）

マウスに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内分布を QWBA により検討した。

CD-1 マウス及び C57 黒色マウス（雄各 1 匹／時点、体重：21.1～34.9 g、週齢：5～6 週齢）に[^{14}C]-TAF を 100 mg/kg（300 µCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む懸濁液を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。CD-1 マウスでは投与 0.5、1、3、8、12、24、48、96 及び 168 時間後に、C57 黒色マウスでは投与 0.5、1、3、12、24、96、168、240 及び 336 時間後に採血し、QWBA に供した。各組織内放射能濃度を表 2.6.4- 10 及び 2.6.5.5.A 項に示す。

雄 CD-1 マウスに[^{14}C]-TAF を 100 mg/kg で経口投与後の放射能は、最初の採取時点である投与 0.5 時間後までに各組織に広範に分布し、ほとんどの組織で投与後 1 時間までに最高濃度に達した。消化管を除いて、C_{max} が高い値を示した組織は、肝臓、胆嚢、膀胱、横隔膜、腎皮質、腎臓及び腎髄質であり、C_{max} が低い値を示した組織は、精巣、大脳、脂肪（腹部）、脊髄及び脳髄質であった。

雄 C57 黒色マウスにおいても、CD-1 マウスと同様に、放射能は最初の採取時点である投与後 0.5 時間までに各組織に広範に分布し、ほとんどの組織で投与 0.5 時間後までに最高濃度に達した。消化管を除いて、C_{max} が高い値を示した組織は、肝臓、胆嚢、膀胱、腎皮質、腎臓、腎髄質及び横隔膜であった。C_{max} が低い値を示した組織は、精巣、脊髄、大脳、脳髄質及び小脳であった。

低濃度の放射能が脳及び精巣に検出されたことから、若干の放射能が血液脳関門及び血液精巣関門を通過することがが示唆された。また、C57 黒色マウスでは、CD-1 マウスに比べて、眼の水晶体、ブドウ膜及び眼球への曝露が高度であった。しかし、有色皮膚と白色皮膚の間での分布に差は認められなかったことから、放射能はメラニン含有組織に選択的に結合しないことが示された。

表 2.6.4- 10　CD-1 及びC57 マウスに[^{14}C]-TAFを単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）

Organ	Radioactivity (μg equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0.5 h		1 h		3 h		12 h		24 h	
Mouse Strain	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black
Adrenal gland(s)	9.92[a]	34[a]	27.5[a]	26.4	9.45[a]	20.4	3.01	7.75[a]	3.6	10.4[a]
Bile	60.3	198	127	136	115	150	65.9	40.3	12.9	26.6
Blood	14.6	16.7	14.5	9.27	5.28	7.91	4.38	4.17	6.1	3.78
Bone	1.3	11.2	2.42	4.49	1.23	4.9	1.01	2.43	0.525	1.77
Bone marrow	4.73	24.3	6.61	19	2.03	16.1	2.04	6.44	2.12	6.47
Brain cerebellum	0.569	0.611	1.94	0.59	0.395	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND
Brain cerebrum	0.768	1.24	1.43	0.661	BLQ	BLQ	0.379	ND	BLQ	ND
Brain medulla	0.42	0.886	0.833	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND
Brain olfactory lobe	1.12	3.79	2.89	1.73	0.464	1.64	0.461	0.688	BLQ	0.707
Cecum	3.44	25.4	6.96	95.4	90.5	ND[b]	19.1	50.5	8.31	10.5
Diaphragm	40.6	60.3	167	103	46.6	114	26.6	27.5	28.3	25.9
Epididymis	3.6	10.8[a]	22.3	4.19	1.31	4.99	0.54	2.12	0.864	2.15[a]
Esophagus	38.4	76.1	90.8	81.3	57.3	48.9	20.1	27.9	8.66	8.54
Exorbital lacrimal gland	3.6	18.1	5.46	12	1.4	11.8	1.25	4.91	1.29	3.53
Eye lens	0.967	4.31	2.98	1.87	0.508	1.11	BLQ	0.527	BLQ	BLQ
Eye uveal tract	4.18	13.4	3.69	12.2	0.754	11.6	0.947	4.74	0.779	6.14
Eye(s)	1.88	5	2.66	2.92	0.539	2.44	0.428	1.04	0.363	1.06
Fat (abdominal)	1.25	5.46	1.17	6.82	0.968	2.14	0.512	4.18	0.787	1.7
Fat (brown)	3.07	19.2	5.59	18.7	2.53	14.5	2.06	10.8	3.03	8.66
Gall bladder	335	163	216	379	108	275	68.1	94	37.1	39.8
Harderian gland	4.24	18.5	6.5	14.6	1.53	13.6	2.17	6.2	1.39	4.58
Intra-orbital lacrimal gland	7.63	NR	3.58	NR	1.9	NR	2.28	NR	1.5	3.76

表 2.6.4-10　CD-1 及び C57 マウスに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）（続き）

Organ	Radioactivity (μg equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0. 5 h		1 h		3 h		12 h		24 h	
Mouse Strain	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black
Kidney cortex	92.3	137	89	125	74	104	30	58	23.1	34.5
Kidney medulla	65	125	70	94.7	54.8	80	18.1	40.2	12.8	19.4
Kidney(s)	84.8	132	86.1	107	68.9	89.6	25.9	47.5	19.9	29.5
Large intestine	6.68	25.7	8.09	17.3	7.73	32.3	22.5	74.2	6.77	35
Liver	282	488	447	490	290	385	197	282	164	118
Lung(s)	13.2	32.3	23.9	32.5	4	26.5	10	18.1	11.5	13.5
Lymph node(s)	5.19	17.9	7.75	14.6	1.68	12.6	1.76	8.02	2.28	10.9
Muscle	1.68	8.78	2.1	4.14	0.466	3.19	0.768	2.01	0.579	3.9
Myocardium	7.57	23.2	11.7	13.5	2.38	13.6	4.6	8.47	4.62	9.51
Nasal turbinates	2.72	10.6	6.44	2.98	1.29	3.55	0.983	2.39	1.19	1.92
Pancreas	6.13	34.9	14.5	26.9	2.95	31.5	3.54	15.4	2.88	13.9
Pituitary gland	2.91	17.4	7.44	8.44	1.28	6.59	2.51	0.85	1.3	ND
Preputial gland	1.9	11.5	2.58	6.39	0.635	6.13	0.708	2.24	0.503	1.97
Prostate gland	5.5	ND[c]	2.88	8.63	2.15	4.84	3.06	8.62	2.59	ND
Salivary gland(s)	5.39	36.2	11.5	24.2	1.88	27.2	2.42	9.91	2.16	12.2
Seminal vesicle(s)	1.79	5.54	3.41	3.53	0.957	2.47	0.852	2.15	0.62	0.825
Skin (nonpigmented)	8.52	NA	5.58	NA	1.51	NA	0.674	NA	0.715	NA
Skin (pigmented)	NA	11.6	NA	5.93	NA	3.35	NA	1.18	NA	1.34
Small intestine	8.77	26.9	74.5	56.1	88.1	28	14.1	14.1	4.04	11.3
Spinal cord	0.757	1.95	1.21	0.742	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Spleen	6.1	35.3	12.9	29.6	3.85	29.1	5.46	16.6	6.27	12.2
Stomach	77.6	60.5	39.3	70.6	26.6	29.2	5.46	7.9	5.94	6.73

表 2.6.4-10　CD-1 及び C57 マウスに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）（続き）

Organ	Radioactivity (µg equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0. 5 h		1 h		3 h		12 h		24 h	
Mouse Strain	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black	CD-1	C57 Black
Stomach mucosa	96.9	ND	46.9	ND	19.8	ND	5.28	ND	3.66	ND
Stomach wall	48.6	ND	24.5	ND	26.6	ND	7.69	ND	22.7	ND
Testis(es)	1.16	2.64	1.49	1.76	0.774	1.07	BLQ	0.512	0.319	0.752
Thymus	2.51	12.4	6.14	8.19	0.914	7.19	0.903	3.44	1.19	3.41
Thyroid	7.12	40.7	12.1	32.7	2.83	29	1.2	NR	4.6	10.9
Urinary bladder	ND[c]	ND[c]	174	138	85.6	49.1	5.8	12	10.3	6.29
Urine	1790	1170	413	626	200	128	36.8	135	24.7	18.4

BLQ = below the limit of quantitation [<0.311 (CD-1) or <0.49 (C57 Black) µg equivalents [^{14}C]-TAF/g]; h = hours; NA = not applicable; ND = not detectable (sample shape not discernable from background or surrounding tissue); NR = not represented (tissue not present in section)

a　Tissue appeared to be fat-soaked.

b　Not detectable due to flare from cecum contents.

c　Not detectable due to flare from urine.

(Source AD-120-2011 Table11 and Table12)

4.1.2　ラット

（試験番号 AD-120-2020、添付資料 4.2.2.3.2、評価資料）

ラットに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内分布を QWBA により検討した。

SD ラット及び Long Evans（LE）ラット（雄各 1 匹／時点、体重：193～329 g、週齢：6～8 週齢）に[^{14}C]-TAF を 5 mg/kg（100 µCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水溶液を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 0.25、1、4、8、12、24、48、96 及び 168 時間後に採血後、QWBA に供した。投与 0.25 時間後のオートラジオグラムを図 2.6.4- 6（白色ラット）及び図 2.6.4- 7（有色ラット）に、組織内放射能濃度を表 2.6.4- 11 及び 2.6.5.5.B 項に示す。

SD ラット又は LE ラットに[^{14}C]-TAF を 5 mg/kg で経口投与後の放射能は、ほとんどの組織で最初の採取時点に最高濃度に達した。C_{max} が高い値を示した組織は、腎皮質、腎臓、腎髄質及び肝臓であった。一方、C_{max} が低い値を示した組織は、SD ラットでは脳嗅葉、精嚢、眼の硝子体液、胸腺、眼球、精巣及びハーダー腺であり、LE ラットでは、骨、脳嗅葉、精嚢、脂肪（腹部）、筋肉、眼の硝子体液及び眼球であった。ラットの眼球において、低濃度の放射能の一過性の曝露が認められたが、SD ラットでは投与 4 時間後、LE ラットでは投与 1 時間後には検出限界以下に減少した。SD ラットと LE ラットの間で、皮膚及び眼球を含めて、分布に差は認められなかったことから、メラニンへの結合はないことが示唆された。

表 2.6.4- 11　SD及びLEラットに[^{14}C]-TAFを単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）

Organ	Radioactivity (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0.25 h		1 h		4 h		12 h		24 h	
Rat Strain	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE
Adrenal gland(s)	181[a]	353[a]	129[a]	115	BLQ[a]	48.5[a]	ND	ND	ND	ND
Arterial wall	817	1350	299	270	118	90.4	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	1070	1260	334	221	138	116	83.1	117	ND	ND
Bone	BLQ	50.4	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	233	311	125	84.9	72.6	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	45.7	57.2	BLQ	51.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	396	831	177	209	236	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	218	603	132	118	541	889	NR	362	323	494
Diaphragm	210	353	145	124	52.9	55.8	ND	ND	ND	ND
Epididymis	249[a]	516	101[a]	79.3	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Esophagus	341	923	222	218	187	186	58.9	65.8	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	234	353	101	56.1	51.2	BLQ	ND	ND	ND	ND
Eye lens	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	409	555	187	89.5	78.4	59.4	ND	ND	ND	ND
Eye vitreous humor	84.9	139	89.3	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	86.1	150	92.7	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	BLQ	70.0	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	200	232	97.1	BLQ	48.2	ND	55.7	ND	ND	ND
Harderian gland	98.6	209	52.4	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND

表 2.6.4- 11　SD 及び LE ラットに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）（続き）

Organ	Radioactivity (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0.25 h		1 h		4 h		12 h		24 h	
Rat Strain	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE
Intra-orbital lacrimal gland	250	402	118	53.4	BLQ	49.1	ND	ND	ND	ND
Kidney cortex	10700	8000	12400	8890	11800	6980	8300	5150	2010	2440
Kidney medulla	8240	6900	5040	3670	2800	655	1010	757	317	367
Kidney(s)	9520	7750	8710	7570	8250	5160	4590	3000	1380	1310
Large intestine	364	548	140	91.5	55.8	474	ND	133	ND	132
Liver	6730	10300	6730	7800	4010	7710	3570	5610	1090	1380
Lung(s)	592	854	211	145	81.1	67.2	ND	66.3	ND	BLQ
Lymph node(s)	318[a]	422[a]	ND	94.9[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	101	115	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	361	512	136	46.6	58.6	BLQ	ND	BLQ	ND	ND
Nasal turbinates	123	201	83.8	71.9	52.8	BLQ	ND	ND	ND	ND
Pancreas	215	274	120	82.1	68.9	53.5	52.0	ND	ND	ND
Pituitary gland	335	434	116	53.1	50.5	ND	76.2	ND	ND	ND
Preputial gland	140[a]	247	60.1[a]	67.9	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	134	247	88.6	BLQ	117	49.9	BLQ	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	292	368	119	85.3	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND	ND
Seminal vesicle(s)	62.7	67.7	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	393	526	123	71.8	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	NA	623	NA	78.9	NA	BLQ	NA	ND	NA	ND
Small intestine	479	530	500	376	364	122	86.5	220	171	98.6
Spinal cord	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	147	231	105	83.1	59.0	58.3	62.8	60.7	BLQ	BLQ
Stomach	475	682	126	113	66.6	71.4	ND	159	ND	BLQ

表 2.6.4- 11　SD 及び LE ラットに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の組織内濃度（1 匹／時点）（続き）

Organ	Radioactivity (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g tissue)									
Time point	0.25 h		1 h		4 h		12 h		24 h	
Rat Strain	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE	SD	LE
Testis(es)	98.2	157	50.9	BLQ	BLQ	BLQ	ND	BLQ	ND	ND
Thymus	91.2	181	68.1	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Thyroid	324	412	147	59.1	63.6	ND	ND	ND	ND	ND
Tooth pulp	646	793	228	194	84.4	78.7	ND	57.0	ND	NR
Urinary bladder	925	352[a]	205	155	ND[b]	125	1050	45.9	BLQ	48.3
Urine	112000	50200	34400	61000	51100	2280	14500	1140	988	1500

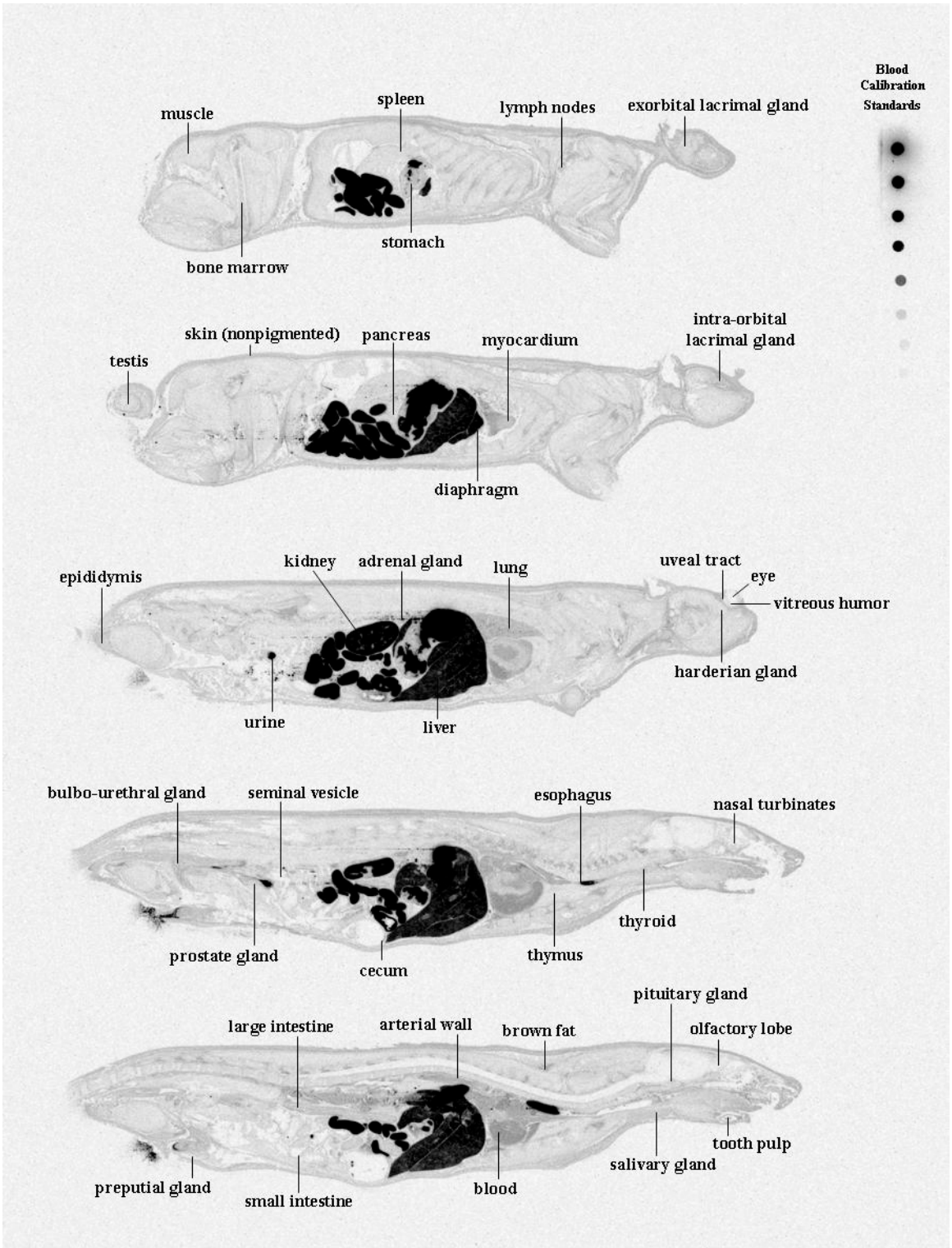
BLQ = below the limit of quantitation (<45.6 ng equivalents [^{14}C]-TAF/g); h = hours; NA = not applicable; ND = not detectable (sample shape not discernable from background or surrounding tissue); NR = not represented (tissue not present in section).

a　Tissue appeared to be fat-soaked.

b　Not detectable due to flare from urine.

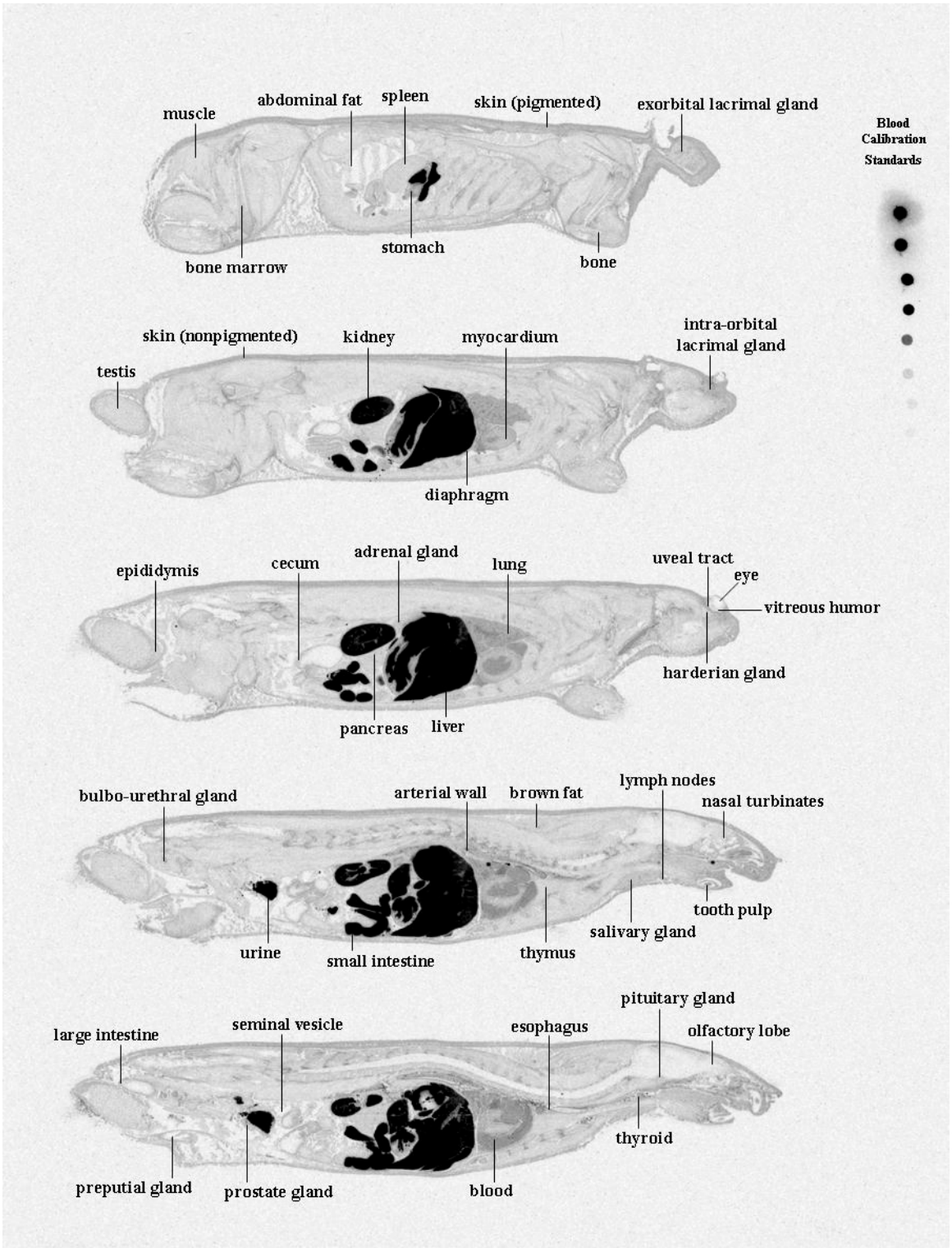
(Source AD-120-2020 Table 9 and Table 10)

図 2.6.4- 6　SDラットに[^{14}C]-TAF（5 mg/kg）を単回経口投与 0.25 時間後の
オートラジオグラム



(Source AD-120-2020 Figure3)

図 2.6.4- 7　LEラットに[^{14}C]-TAF（5 mg/kg）を単回経口投与 0.25 時間後の
オートラジオグラム



(Source AD-120-2020 Figure12)

4.1.3　イヌ

（試験番号 AD-120-2009、添付資料 4.2.2.3.3、評価資料）
（試験番号 D990173-BP、添付資料 4.2.2.3.4、評価資料）

ビーグル犬（雄 2 匹／時点、体重：7.5～10.3 kg、月齢：7～9 ヵ月）に[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg（10 µCi/kg）で絶食下に単回経口投与した（試験番号 AD-120-2009）。グループ 1 では TAF を 15 mg/kg で 4 日間投与後、5 日目に[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg で経口投与した。グループ 2 では[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg で単回投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水溶液を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。投与 1、2、6、12 及び 24 時間後に採血し、組織を採取した。組織内放射能濃度は LSC で測定した。組織内放射能濃度を 2.6.5.5C 項に示す。

また、ビーグル犬（雄 2 匹／群、体重：9.1～9.9 kg）に[^{14}C]-TAF を 18.1 mg/kg（31.7 µCi/kg）で単回経口投与した（試験番号 D990173-BP）。投与媒体には 50 mmol/L クエン酸（pH2.2）を用い、投与容量 1.45 mL/kg で投与した。投与 0.083、0.25、0.5、1、1.5、2、4、6、8 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、PBMC 測定用の採血を投与前並びに投与 2、8、24 時間後に実施した。なお、投与 24 時間後の採血後に各組織を摘出した。組織内放射能濃度を 2.6.5.5D 項に示す。

放射能は各組織に広範に分布したが、脳及び脳脊髄液では検出されなかった。高濃度の放射能が検出されたのは、腎臓、肝臓、消化管、脾臓、リンパ節及び PBMC であった。雄イヌに TAF 又は[^{14}C]-TAF を単回又は反復経口投与後、投与 24 時間後までに最も高濃度の放射能が検出されたのは、肝臓及び腎臓であった。TAF を反復投与後に[^{14}C]-TAF を単回投与したときの組織内放射能濃度は、[^{14}C]-TAF 単回投与のみのイヌに比べて高い値を示した。

4.2　血漿タンパク結合率

（試験番号 AD-120-2026、添付資料 4.2.2.3.5、評価資料）
（試験番号P0504-00039.1、添付資料 4.2.2.3.6、参考資料 *）

TAF のイヌ及びヒト血漿タンパク結合率を平衡透析法で検討した（試験番号 AD-120-2026）。一部のげっ歯類では、血漿中のエステラーゼ発現レベルが高く、血漿中 TAF が非常に不安定であることから、*in vitro* 試験で TAF のタンパク結合率が評価可能であったのは、イヌ及びヒトのみであった。

TAF をイヌ及びヒト血漿に 2 µmol/L になるように添加し、37℃ で 3 時間インキュベートした後、LC/MS/MS 法にて TAF 濃度を測定した。TAF の血漿タンパク結合率を 2.6.5.6.A 項に示した。

TAF のイヌ及びヒト血漿中タンパク結合率は中程度であり、非結合型分率はそれぞれ 48.0%及び 46.8%であった。これらの *in vitro* 非結合型分率は、複数のヒト *ex vivo* 試験で認められた値

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に試験番号 95-DDM-XXXX-001 として提出済み

（全ての被験者における TAF の平均非結合型分率 14%～23%）よりも高い値であった（2.7.2.2.5.1.1 項及び 2.7.2.2.5.1.2 項）。*Ex vivo* の結果の方が臨床的により重要であると考えられるため、薬物相互作用の評価には、*ex vivo* で得られた 20%を TAF の非結合型分率として用いた（本項第 7 章）。

また、TFV のヒト血漿中及び血清中タンパク結合率を限外ろ化法を用いて検討した（試験番号 P0504-00039.1）。ヒト血漿及び血清に[^{14}C]-TFV が 0.01～25.01 µg/mL になるように添加し、37°C で 30 分インキュベートした後、限外ろ過を行い、LSC にて放射能濃度を測定した。タンパク結合率を 2.6.5.6.B 項に示した。

TFV の非結合型分率はヒト血漿中で 99.3 ± 3.3%、ヒト血清中で 92.8 ± 3.6%であり、ヒト血漿又は血清のいずれにおいてもタンパク結合率は低い値であった。

4.3　胎盤通過

4.3.1　妊娠ラット

（試験番号 TX-120-2001、添付資料 4.2.3.5.2.1、評価資料）
（試験番号 TX-120-2002、添付資料 4.2.3.5.2.2、評価資料）

ラット生殖発生毒性試験で妊娠ラットに TAF（モノフマル酸塩）を反復経口投与後の TK 試験を実施した。

SD ラット（雌各 3 匹／時点、体重：264～335 g、日齢：77～84 日齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 5、100 及び 200 mg/kg/日で、妊娠（GD）6～17 日目に反復経口投与した（試験番号 TX-120-2001）。また、SD ラット（雌各 3 匹／時点、体重：246～332 g、日齢：76～84 日齢）に TAF（モノフマル酸塩）を 25、100 及び 250 mg/kg/日で、GD 6～17 日目に反復経口投与した（試験番号 TX-120-2002）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。GD 6 及び 17 日目の投与前並びに投与 0.5、2、4、8 及び 24 時間後に母体より採血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.7A 及び 2.6.5.7B 項に示す。

TAF を経口投与後の血漿中には直ちに TFV が認められた。TFV 曝露量は用量の増加に伴い増加し、5～200 mg/kg/日の用量範囲で GD 17 の $AUC_{0\text{-}t}$ を除いて、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加率は用量の増加比を上回った（試験番号 TX-120-2001）。また、25～250 mg/kg/日の用量範囲では、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加率は一致せず、$AUC_{0\text{-}t}$ のみ用量の増加比を上回って増加した（試験番号 TX-120-2002）。いずれの投与量範囲でも TAF 及び TFV の顕著な蓄積性は認められなかった（最大で約 2.5 倍）。

4.3.2　妊娠ウサギ

（試験番号 TX-120-2004、添付資料 4.2.3.5.2.4、評価資料）
（試験番号 TX-120-2005、添付資料 4.2.3.5.2.5、評価資料）

ウサギ生殖発生毒性試験で妊娠ウサギに TAF（モノフマル酸塩）を反復経口投与後の TK 試験を実施した。

ニュージーランド白色ウサギ（雌各 6 匹／群、体重：3.1～4.1 kg、月齢：5～6 ヵ月）に TAF（モノフマル酸塩）を 5、25、50 及び 100 mg/kg/日で、GD 7～20 日目に反復経口投与した（試験番号 TX-120-2004）。また、ニュージーランド白色ウサギ（雌各 3 匹／群、体重：2.8～3.9 kg、月齢：5 ヵ月）に TAF（モノフマル酸塩）を 10、30 及び 100 mg/kg/日で、GD 7～20 日目に反復経口投与した（試験番号 TX-120-2005）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水溶液を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。GD 7 及び 20 日目の投与前並びに投与 0.5、2、4、8 及び 24 時間後に母体より採血し、血漿試料を得た。血漿中 TAF 及び TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.7C 及び 2.6.5.7D 項に示す。

ウサギに TAF を経口投与後、大部分が TFV に代謝された。いずれの試験においても、TAF 曝露量は用量の増加に伴い増加したが、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の増加率は用量の増加比を上回った。TFV 曝露量は用量の増加に伴い増加し、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、おおむね用量に比例して増加した。TAF（モノフマル酸塩）の反復投与による TFV の明らかな蓄積性は認められなかった（約 2 倍）。

4.3.3　妊娠サル

（試験番号 96-DDM-1278-005、添付資料 4.2.2.3.7、参考資料 *）

妊娠アカゲザルに TFV を皮下投与後の胎盤通過を検討した。アカゲザル（雌 1 匹）に妊娠 111 日目から TFV を 30 mg/kg/日で反復皮下投与した。妊娠 115、127、134、140 及び 151 日目の投与 25～45 分後に母体及び胎児から採血し、血清試料を得た。血清中 TFV 濃度を LC／蛍光検出器法にて測定した。母体及び胎児血清中濃度を 2.6.5.7E 項に示した。投与約 30 分後の時点での胎児／母体血清中濃度比は 0.17 ± 0.07 であり、TFV の胎盤移行性が示された。

4.3.4　乳汁移行

（試験番号 P2000116、添付資料 4.2.2.3.8、評価資料）

授乳中のアカゲザル（雌 2 匹）に TFV を 30 mg/kg で単回皮下投与した。投与前並びに投与 0.5、1、2、4、6、8、10 及び 24 時間後に採血し、血清試料を得た。また、同時に乳汁も採取した。血

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

清及び乳汁中 TFV 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。ノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.7F 項に示す。

TFVは速やかに吸収され、血清中TFVのt_{max}は 0.5 時間、C_{max}は 18.3 及び 30.2 µg/mLであった。他の動物種でみられたように消失は二相性であり、$t_{1/2}$は各個体で 3.97 時間及び 2.85 時間であった。この値は、雄サル及び授乳していない雌サルにおける$t_{1/2}$（約 9 時間）に比べると短いように思われるが［8］、これは、本試験でのサンプリング期間が短かったためと考えられる（本試験：24 時間、文献 8：48 時間）。

本試験における 2 頭のサルの AUC_{inf}値は 68.9 及び 56.2 µg·h/mL であった。30 mg/kg の TFV を静脈内投与後に得られた AUC と比較すると［8］、TFV は皮下投与後、完全に吸収されることが示唆された。

乳汁中 TFV 濃度は、4 時間及び 1 時間に t_{max} に達した。乳汁中 TFV の C_{max} は、血清中 C_{max} のそれぞれ 4.4%及び 2.0%であり、$t_{1/2}$ は 10.3 時間及び 10.9 時間であった。乳汁中 TFV の AUC_{inf}は、血清中 AUC_{inf}のそれぞれ 18.6%及び 21.5%であった。

4.3.5　幼若サル

（試験番号 96-DDM-1278-005、添付資料 4.2.2.3.7、参考資料 *）

アカゲザル乳児に TFV を皮下投与後の PK を検討した。

アカゲザル（新生児、生後 1、3 及び 12 ヵ月；各群 n = 2）に TFV を 30 mg/kg で単回皮下投与した。TFV は水溶液として調製し、投与容量は 1 mL/kg であった。投与前並びに投与 0.5、1（新生児のみ）、2、4、7 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。血漿中 TFV 濃度は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）／蛍光検出法で測定した。血清中濃度を 2.6.5.7E 項に示す。

新生児、生後 1、3 及び 12 ヵ月のサルにおける TFV の C_{max} は、それぞれ 51.8、30.7、34.6 及び 18.8 µg/mL であり、t_{max} は全ての群において 0.5 時間であった。TFV の CL/F は、それぞれ 0.18、0.54、0.41 及び 1.02 L/h/kg であり、出生時から 1 歳までにクリアランスが増大することが示された。以上の結果から、同用量においては、幼若なサルほど TFV の曝露量が大きくなることが示唆された。TFV の CL/F は、サル乳児の体重及び月齢に依存したが、これはサル新生児では、TFV の尿細管分泌を担うアニオン輸送系が発達していないためと考えられた。

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

4.4　血球移行率

（試験番号 AD-120-2011、添付資料 4.2.2.3.1、評価資料）
（試験番号 AD-120-2020、添付資料 4.2.2.3.2、評価資料）
（試験番号 AD-120-2009、添付資料 4.2.2.3.3、評価資料）

マウス、ラット及びイヌでの組織内分布試験で血球移行を検討した。試験の詳細は本項 4.1 章に記載した。

CD-1 マウス及び C57 黒色マウスに[^{14}C]-TAF を経口投与後の血液／血漿中濃度比は投与 3 時間以降で 1 超であったことから、放射能は血球へ移行しやすいことが示唆された（表 2.6.4- 12）。また、SD 及び LE ラットに[^{14}C]-TAF を経口投与後の血液／血漿中濃度比は 168 時間まで 1 未満であったことから、ラットでの放射能の血球への移行は少ないものと考えられた（表 2.6.4- 13）。さらにイヌに[^{14}C]-TAF を単回及び反復経口投与後の投与 2 時間後までの血液／血漿中濃度比は 1 未満であり、その後 24 時間まで 1 以上を示したことから、投与直後の放射能の血球移行率は少ないが、その後血球へ移行しやすくなると考えられた（2.6.5.5C 項）。

表 2.6.4- 12　マウスでの血球移行率

Time (h)	0.5	1	3	8	12	24	48	96	168	240	336
CD-1	1.18	1.78	2.06	5.68	8.70	5.95	9.07	13.2	16.8	NA	NA
C57	0.823	0.911	1.43	NA	2.02	2.59	NA	11.1	13.2	NA	NA

NA: not applicable

(Source AD-120-2011 Table8, Table9)

表 2.6.4- 13　ラットでの血球移行率

Time (h)	0.25	1	4	8	12	24	48	96	168
SD	0.597	0.624	0.633	0.713	0.721	0.770	0.915	NA	NA
LE	0.599	0.596	0.642	0.698	0.635	0.823	0.939	NA	NA

LE = Long-Evans, NA = not applicable, SD = Sprague-Dawley

(Source AD-120-2020 Table7, Table8)

5　代謝

5.1　*In vitro*

5.1.1　代謝安定性

（試験番号 AD-120-2025、添付資料 4.2.2.4.1、評価資料）
（試験番号 AD-120-2024、添付資料 4.2.2.4.2、評価資料）
（試験番号 AD-120-2023、添付資料 4.2.2.4.3、評価資料）
（試験番号 AD-120-2027、添付資料 4.2.2.4.4、評価資料）

イヌ並びにヒト血漿、肝 S9 画分及び小腸 S9 画分での TAF 安定性を検討した。

イヌ及びヒト血漿に TAF が 3 µmol/L になるように添加し、37°C で 4 時間までインキュベートした（試験番号 AD-120-2025）。また、イヌ並びにヒト小腸 S9 画分及び肝 S9 画分に TAF が 3 µmol/L になるように添加し、37°C で 90 分までインキュベートした（試験番号 AD-120-2024 及び AD-120-2023）。インキュベート後の試料中 TAF 濃度は LC/MS 法にて測定した。結果を表 2.6.4- 14 及び 2.6.5.9A 項、2.6.5.9B 項及び 2.6.5.9C 項に示す。

TAF は血漿及び小腸 S9 画分ではやや安定であり、$t_{1/2}$ はヒトでそれぞれ 74.7 分及び 58.3 分、イヌで 69.5 分及び 47.1 分であった。ヒト小腸 S9 画分における TAF の安定性については、小腸 S9 画分における TAF と他の HIV PI との薬物相互作用試験でも検討しており（本項 7.4 章）、TAF の $t_{1/2}$ は 24.5 分と若干短いか同程度であった（試験番号 AD-120-2027、2.6.5.9D 項）。肝 S9 画分中の TAF は、イヌ並びにヒト血漿又は小腸 S9 画分中と比較して不安定であり、$t_{1/2}$ はそれぞれ 31.1 分及び 20.6 分であった。これらのデータから算出されるヒト及びイヌでの肝抽出率は 76.2% 及び 60.5%であった（試験番号 AD-120-2023）。

表 2.6.4- 14　TAFのイヌ及びヒト血漿、小腸S9 画分並びに肝S9 画分中安定性

	TAF Stability, $t_{½}$ (min)		
Species	Plasma	Intestinal S9	Hepatic S9
Human	74.7	58.3	20.6
Beagle Dog	69.5	47.1	31.1

(Mean, n=2)
(Source AD-120-2023 Table 2, AD-120-2024 Table 1, AD-120-2025 Table 1)

5.1.2　CYP 同定

（試験番号 AD-120-2004、添付資料 4.2.2.4.5、評価資料）

ヒト CYP 発現系（CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）に TAF を 5 µmol/L になるように添加して 37°C で 45 分までインキュベートした。インキュベート後の試料中 TAF 濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。

TAF は CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 又は CYP2D6 で代謝されなかった。なお、TAF は CYP3A4 で緩徐に代謝され、代謝速度は 1.9 min^{-1} であった。これは陽性対照であるテストステロンの代謝速度の 26.6%であった（2.6.5.9E 項）。

5.1.3　ヒト肝細胞での TAF の活性化

（試験番号 AD-120-2017、添付資料 4.2.2.4.6、評価資料）

TAF及びTDFはTFVのプロドラッグであり、活性代謝物であるTFV-DPに代謝される。TAFは細胞内に取り込まれた後、CES1 やカテプシンA（CatA）などの加水分解酵素によってカルボキシル結合が加水分解され、中間代謝物であるTFV-アラニン（TFV-Ala）に代謝される。TFV-Alaはさらに加水分解されてTFVになり、TFVがアデニル酸キナーゼ及びヌクレオシド-二リン酸キナーゼによってリン酸化されて、活性代謝物であるTFV-DPになる（図 2.6.4- 8）。CatAは、PBMC又はその他のHIV標的細胞においてTAFをTFVに加水分解する主要な酵素であるが、本項 7.4 章に示すように、初代肝細胞では、TAFは主にCES1 によって加水分解される［4、6、9］。その後、TFVは、さらに細胞内ヌクレオチドキナーゼによってTFV-DPにリン酸化される。これらの段階は、低親和性／高活性であるため、他剤によって容易には阻害されない。

TAF のヒト初代肝細胞での活性化を TFV 及び TDF と比較した。ヒト初代肝細胞に TAF、TDF 又は TFV が 5 µmol/L になるように添加し、37°C で 24 時間までインキュベートした（各 2 例）。インキュベート後の試料中 TFV-DP 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。

TAF、TDF 又は TFV とヒト初代肝細胞を 24 時間インキュベーション後の肝細胞中 TFV-DP 濃度は、それぞれ 1470、302 及び 12.1 pmol/10^6 cells であったことから、細胞内 TFV-DP 濃度は TAF とのインキュベーションで、TDF 及び TFV のそれぞれ 5 倍及び 120 倍となることが示された（図 2.6.4- 9、2.6.5.9F 項）。また、ヒト初代肝細胞における細胞内 TFV-DP の $t_{1/2}$ は 24 時間超であると推定されている［6］。

図 2.6.4- 8　TAF の細胞内活性化経路

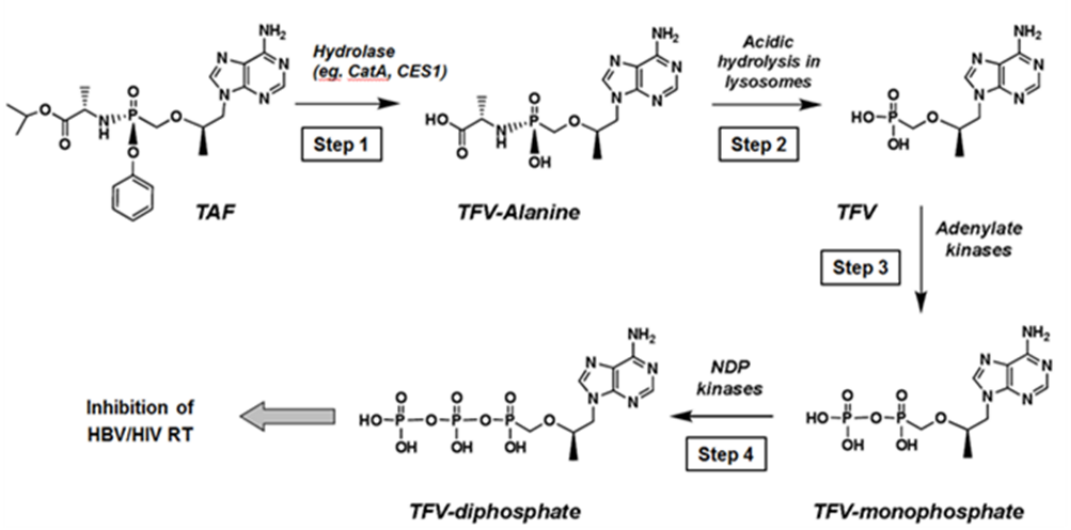
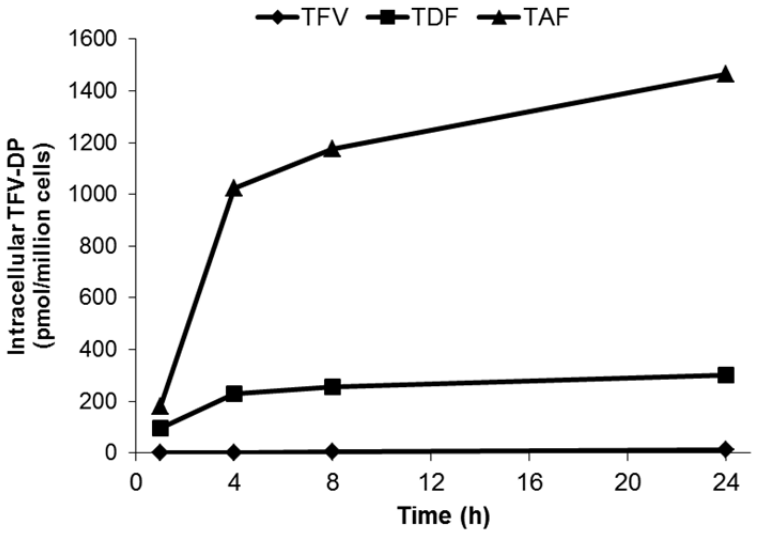


図 2.6.4- 9　TAF、TDF 及び TFV をヒト初代肝細胞とインキュベート後の TFV-DP の生成



(Source AD-120-2017 Figure2)

5.1.4　TFV の安定性

（試験番号 96-DDM-1278-003、添付資料 4.2.2.4.7、参考資料 *）

イヌ血漿、ラット肝ミクロソーム（通常のミクロソーム及び Aroclor™ 1254 で酵素誘導させたミクロソーム）、イヌ肝臓及び小腸 S9 画分に[^{14}C]-TFV を 50 µg/mL となるように添加し、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）添加／非添加で 37°C で 60 分までインキュベートした。TFV 異性化の可能性を確認するため、試料中薬物濃度はキラル HPLC／ラジオ検出器にて測定した。インキュベーション反応液を除タンパクした際の沈殿物に含まれる放射能も LSC にて測定した。

沈殿物に含まれる放射能は総放射能の 0.1%未満であった。全ての条件下において、TFV は未変化体として回収された。NADPH の有無にかかわらず、ラットミクロソームにおいて代謝物は検出されなかった。代謝によるキラル反転は認められなかった。イヌ血漿、肝臓及び小腸 S9 画分と[^{14}C]-TFV とのインキュベーションで、明らかな TFV の消失は認められず、代謝物は検出されなかった（2.6.5.9G 項）。

5.2　*In vivo*

5.2.1　マウス、ラット及びイヌ

（試験番号 AD-120-2012、添付資料 4.2.2.4.8、評価資料）
（試験番号 AD-120-2021、添付資料 4.2.2.4.9、評価資料）
（試験番号 AD-120-2009、添付資料 4.2.2.3.3、評価資料）
（試験番号 AD-120-2007、添付資料 4.2.2.5.2、評価資料）
（試験番号 AD-120-2008、添付資料 4.2.2.4.10、評価資料）
（試験番号 GS-US-120-0109、添付資料 5.3.3.1.1、評価資料）

マウスでの[^{14}C]-TAF 単回経口投与後の分布並びに尿、胆汁及び糞中排泄を評価する試験（本項 4.1.1 章）の一部として、血漿、尿、糞、腎臓、肝臓及び鼻甲介中代謝物の検討を行った（試験番号 AD-120-2012）。CD-1 マウス（尿及び糞：雄 4 匹／群、血漿及び組織：雄 3 匹／時点、体重：21.1～34.9 g、週齢：5～6 週齢）に[^{14}C]-TAF を 100 mg/kg（300 µCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む懸濁液を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、肝臓、腎臓及び鼻甲介は投与 1、4（鼻甲介のみ）、12（鼻甲介のみ）、24 及び 48 時間後に採取した。さらに、投与後 72 時間までの尿及び糞を採取した。本試験では、*in vitro* でのマウス血漿及び肝ミクロソーム中代謝物も検討した。マウス血漿又は肝ミクロソームに[^{14}C]-

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

TAF が 5 μmol/L になるように添加し、37℃ で 60 分までインキュベートした。試料中放射能は LSC で測定し、代謝物を LC/MS/RFD で同定した。

また、ラットでの[^{14}C]-TAF 単回経口投与後の分布並びに尿、胆汁及び糞中排泄を評価する試験（本項 4.1.2 章）の一部として、血漿、尿、糞及び胆汁中代謝物の検討を行った（試験番号 AD-120-2021）。SD ラット（血漿：雄 3 匹／時点、尿、糞及び胆汁：雄 4 匹／群、体重：193～329 g、週齢：6～8 週齢）に[^{14}C]-TAF を 5 mg/kg（100 μCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、胆汁、尿及び糞を投与後 4、24 及び 48 時間まで採取した。

さらに、イヌでの[^{14}C]-TAF 単回経口投与後の分布並びに尿、胆汁及び糞中排泄を評価する試験（本項 4.1.3 及び 6.1.3 章）の一部として、血漿、尿、糞、胆汁、肝臓及び骨中代謝物の検討を行った（試験番号 AD-120-2008）。ビーグル犬（雄 2 匹／時点／群、体重：7.5～10.3 kg、月齢：7～9 ヵ月）に[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg（10 μCi/kg）で経口投与した（試験番号 AD-120-2009）。BDC 及び未処置ビーグル犬（雄 3 匹／時点／群、体重：9.0～10.9 kg、月齢：7～10 ヵ月）に[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg（10 μCi/kg）で経口投与した（試験番号 AD-120-2007）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。投与 0.25、0.5、2、4、12 及び 24 時間後に採血し、血漿試料を得た。また、肝臓及び骨を投与後 2 及び 24 時間、胆汁、尿及び糞を投与後 6、96 及び 48 時間まで採取した。試料中放射能は LSC で測定し、代謝物を LC/MS/RFD で同定した。

マウス、ラット、イヌ及びヒト（2.7.2.2.2.1.2 項）での試験結果に基づき、様々な動物種における TAF 代謝物の相対量を、血漿では総 AUC に対する割合（%）として、尿、糞及び胆汁では放射能総回収率に対する割合（%）として表 2.6.4- 15 に示した。全ての動物種において、ヒポキサンチン、キサンチン、アラントイン及び尿酸などの内因性プリン代謝物が検出された。ヒト血漿を除いて、全ての動物種の血漿、尿及び糞中における TAF 関連物質の大部分を占めたのは TFV であった。ヒト血漿中では尿酸が主代謝物であり、96 時間までの生成量は総 AUC の 73.9%を占めた。ラット胆汁中では M28 が主代謝物であり、胆汁中に回収された総放射能の 63%を占めた。イヌ胆汁中では M18 及びその酸化体である M16 が主代謝物であり、胆汁中に回収された総放射能の 29%及び 38%を占めた。イヌ胆汁中では、様々な酸化代謝物が認められた。ヒトに特有の代謝物は認められなかった。

マウスの腎臓、肝臓及び鼻甲介について、TAF 関連代謝物を検討した（試験番号 AD-120-2012）。腎臓及び肝臓では、放射能のほとんどが TFV に由来するものであり、鼻甲介で同定された主代謝物はキサンチン（M7）であった。イヌの骨及び肝臓でも、これらの組織に含まれる放射能のほとんどは、TFV に由来するものであった（試験番号 AD-120-2008）。

M18（イソプロピルアラニニルが付加した TFV）及び M28（TFV-Ala）は、TAF から TFV への細胞内での中間代謝物と考えられる。イヌを用いた代謝プロファイリング試験では、M28 は検出されなかったが、過去の試験では、投与 15 分後のイヌ血漿中において定性的に検出されている［7］。M28 は、低濃度で一過性に生成する可能性がある。M28 濃度は、ラット及びマウス血漿

中では低く、ラット胆汁中では比較的高濃度で検出された。M18 は、イヌで血漿、尿及び肝臓で微量代謝物として検出され、胆汁中では比較的高濃度で検出された。

表 2.6.4- 15　血漿、尿、胆汁及び糞中TAF代謝物の割合（%）

Animal	Metabolites	Plasma[a]	Urine	Feces	Bile
Mouse	TFV (M12)	54.8	18.1	30.7	NA[b]
	M28	1.02	0	0.7	NA
	Allantoin (M27A)	12.2	2.6	0.4	NA
	Uric acid (M27B)	19.4	0	0	NA
	Unknown metabolites	12.6	3.2	0	NA
	Total	100	23.9	31.8	NA
Rat	TFV (M12)	66.7	17.1	63.6	NA
	M28	5.8	0	0	NA
	Allantoin (M27A)	23.2	0.1	0	NA
	Unknown metabolites	4.3	1.6	0	NA
	Total	100	18.8	63.3	NA
Rat (BDC[c])	TFV (M12)	NA	17.1	61.7	0.67
	M28	NA	0.4	0	1.17
	Allantoin (M27A)	NA	0.2	0	0
	Uric acid (M27B)	NA	0	0	0.02
	Unknown metabolites	NA	1.7	0	0
	Total	NA	19.4	61.7	1.85
Dog	TAF	1.3	1.3	0	NA
	TFV (M12)	68.3	24.2	20.8	NA
	M11	0	0.4	0.4	NA
	M17	0.44	0	0	NA
	M18	17.6	0.2	0	NA
	M20	0.2	0	0	NA
	Unknown metabolites	12.2	3.0	0.2	NA
	Total	100	29.1	21.4	NA
Dog (BDC)	TAF	NA	1.3	0	0.2
	TFV (M12)	NA	16.8	26.4	1.0
	M11	NA	0.4	0.7	0.1
	M14	NA	0	0	0.2
	M16	NA	0	0	4.4
	M17	NA	0	0	0.5
	M18	NA	0	0	3.4
	M19	NA	0	0	0.1
	M21	NA	0	0	0.4
	M22	NA	0	0	0.2
	M23	NA	0.2	0	0.2
	Unknown metabolites	NA	2.9	0	0.9
	Total	NA	21.6	27.1	11.6

表 2.6.4- 15　血漿、尿、胆汁及び糞中 TAF 代謝物の割合（%）（続き）

Animal	Metabolites	Plasma[a]	Urine	Feces	Bile
Human	TAF	1.8	1.41	0	NA
	TFV (M12)	1.5	22.2	31.4	NA
	Uric acid (M27B)	73.9	1.93	0	NA
	Xanthine/hypoxanthine (M7/M8)	0	0.26	0	NA
	Unknown metabolites	22.8	0	0.29	NA
	Total	100	25.8	31.7	NA

a　Plasma data represent % of total AUC.
b　NA = not applicable
c　BDC = bile duct cannulated
d　Not 100% due to loss of radioactivity during sample preparations.
(Source AD-120-2012, Table 3～5, AD-120-2021 Table 3～8, AD-120-2008 Table 1～6, GS-US-120-0109 Table10-4, Table 10-5, Table 10-6)

5.2.2　サル

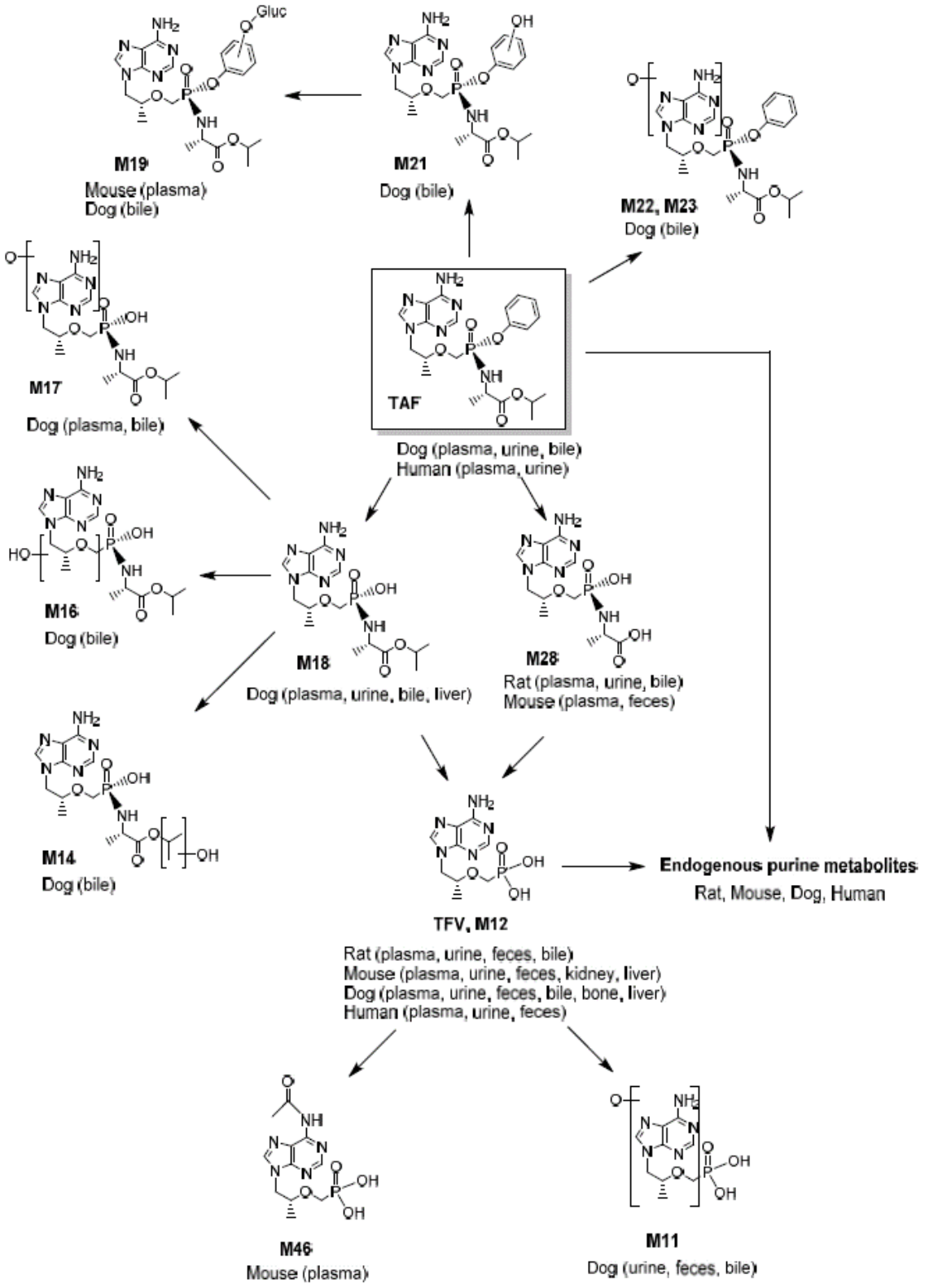
（試験番号 P2001025、添付資料 4.2.1.1.7、評価資料）

アカゲザルに[^{14}C]-TFV を 15、30 及び 60 mg/kg で単回皮下投与したときの PBMC、赤血球（RBC）及びリンパ節における細胞内 TFV 活性化を検討した（2.6.2.2.1.4.1 項）。TFV は PBMC に効率的に取り込まれ、TFV-DP に代謝された。抗ウイルス活性を有する TFV-DP の細胞内最大濃度は 2.8 µmol/L であった（60 mg/kg 群）。TFV-DP の $t_{1/2}$ は 50 時間超であった。RBC 中の TFV-DP 濃度も同程度であった。腋窩、鼠径部及び腸間膜リンパ節における TFV 及びその活性代謝物の細胞内濃度は意味のあるものであった。

5.3　推定代謝経路

マウスの血漿、尿、糞、腎臓、肝臓及び鼻甲介（試験番号 AD-120-2012）、ラットの血漿、尿、胆汁及び糞（試験番号 AD-120-2021）、並びにイヌの血漿、尿、胆汁、糞、骨及び肝臓（試験番号 AD-120-2008）において TAF の代謝プロファイルを検討した。ヒトに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の血漿、尿及び糞についても、代謝物プロファイルを検討した（2.7.2.2.2.1.2 項）。マウス、ラット、イヌ及びヒトの結果に基づいた推定代謝経路を図 2.6.4- 10 に示す。

図 2.6.4- 10　TAFの推定代謝経路



(Source: AD-120-2008, AD-120-2012, AD-120-2021, and GS-US-120-0109)

6　排泄

6.1　尿糞中排泄

6.1.1　マウス

（試験番号 AD-120-2011、添付資料 4.2.2.3.1、評価資料）

マウスでの組織内分布試験（本項 4.1.1 章）の一部として尿糞中排泄を評価した。

CD-1 マウス（雄各 4 匹／群、体重：21.1～34.9 g、週齢：5～6 週齢）に[^{14}C]-TAF を 100 mg/kg（300 µCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む懸濁液を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与後 168 時間までの尿及び糞、並びに 144 時間までのケージ洗浄液を採取し、LSC にて放射能濃度を測定した。排泄率を 2.6.5.5A 項に示す。

放射能のほとんどが投与後 48 時間までに排泄された。投与後 48 時間までに投与量の約 61%（平均値）が尿中及び糞中に回収された。投与後 168 時間までのケージ洗浄液からも投与量の 6.65%（平均値）が回収された。投与後 168 時間までの糞及び尿中に投与量の 41.3%及び 27.7%（いずれも平均値）が排泄された。放射能総回収率は 83.2%であった。

6.1.2　ラット

（試験番号 AD-120-2020、添付資料 4.2.2.3.2、評価資料）

（試験番号 96-DDM-1278-001、添付資料 4.2.2.5.1、参考資料 *）

ラットでの組織内分布試験（本項 4.1.2 章）の一部として尿糞中排泄を評価した（試験番号 AD-120-2020）。

BDC 及び未処置 SD ラット（雄各 3 匹／群、体重：193～329 g、週齢：6～8 週齢）に[^{14}C]-TAF を 5 mg/kg（100 µCi/kg）で単回経口投与した。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水溶液を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。BDC ラットでは投与後 168 時間までの尿、糞及び胆汁を、BDC 未処置ラットでは 168 時間までの尿及び糞を採取した。また、いずれのラットともに 144 時間までのケージ洗浄液を採取し、LSC にて放射能濃度を測定した。尿、糞及び胆汁中排泄率を 2.6.5.5B 項に示す。なお、BDC ラットの結果については、本項 6.2.1 章で考察する。

放射能の大部分は経口投与後 24 時間以内に速やかに排泄された（投与量の 87%）。投与後 168 時間までの糞及び尿中には投与量の 71.9%及び 22.2%（いずれも平均値）が排泄された。放射能総回収率は 96.7%であった。

---

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

SD ラット（雄各 6 匹／群、体重：213～320 g）に[^{14}C]-TFV を 10 mg/kg（n = 4）及び 50 mg/kg（n = 2）（400 μCi/kg）で単回静脈内投与した（試験番号 96-DDM-1278-001）。投与媒体には生理食塩液又はリン酸緩衝生理食塩液を用い、投与容量 1 mL/kg で投与した。投与後 168 時間までの尿、糞及びケージ洗浄液を採取した。試料中放射能は LSC にて測定した。尿糞中排泄率を 2.6.5.13C 項に示す。

10 mg/kg 投与後の 24 時間及び 7 日目までの尿／ケージ洗浄液中累積回収率はそれぞれ 85.2% ± 7.63%及び 92.7% ± 6.77%であった。尿データから算出した $t_{1/2}$ は 15.82 ± 1.79 時間であった。糞中累積排泄率は投与後 24 時間までで 3.18% ± 1.85%及び 7 日目までで 4.48% ± 1.89%であった。50 mg/kg 投与でも同様の結果が得られた。尿及び糞中には TFV のみが検出され、代謝物は検出されなかった。以上の結果から、TFV は主に未変化体として尿中に排泄されることが示された。

6.1.3　イヌ

（試験番号 AD-120-2007、添付資料 4.2.2.5.2、評価資料）
（試験番号 96-DDM-1278-002、添付資料 4.2.2.5.3、参考資料 *）

イヌでの組織内分布試験（本項 4.1.3 章）の一部として尿糞中排泄を評価した（試験番号 AD-120-2007）。

BDC 及び未処置ビーグル犬（雄 3 匹／時点／群、体重：9.0～10.9 kg、月齢：7～10 ヵ月）に[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg（10 μCi/kg）で経口投与した（試験番号 AD-120-2007）。投与媒体には 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 及び 0.1%（w/v）HPMC を含む水を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。[^{14}C]-TAF を投与後 168 時間までの尿及び糞、並びに 144 時間までのケージ洗浄液を採取した。試料中放射能は LSC で測定した。尿糞中排泄率を 2.6.5.13D 項に示す。BDC イヌの結果については、本項 6.2.1 章で考察する。

経口投与後 48 時間以内に、放射能のほとんどが速やかに排泄された。投与後 168 時間までの糞及び尿中に投与量の 37.4%及び 35.9%が排泄された。放射能総回収率は 80.4%であった。

[^{14}C]-TFV を静脈内投与後の排泄も検討した（試験番号 96-DDM-1278-002）。BDC ビーグル犬（雄 1 匹／時点、体重：9.5 kg）に[^{14}C]-TFV を 10 mg/kg（50 μCi/kg）で単回静脈内投与した。投与媒体には水を用い、投与容量 0.2 mL/kg で投与した。[^{14}C]-TFV を投与後 48 時間までの尿、糞及び胆汁を採取した。試料中放射能は LSC で測定した。尿糞中排泄率を 2.6.5.13E 項に示す。胆汁排泄率の結果については、本項 6.2.1 章で考察する。

投与後 48 時間以内の尿中に投与量の 70.03%が回収されたことから、主要排泄経路は尿中排泄であると考えられた。糞中排泄率は投与量の 0.42%であった。

---

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

6.2　胆汁中排泄

6.2.1　ラット及びイヌ

（試験番号 AD-120-2020、添付資料 4.2.2.3.2、評価資料）
（試験番号 AD-120-2007、添付資料 4.2.2.5.2、評価資料）
（試験番号 96-DDM-1278-002、添付資料 4.2.2.5.3、参考資料 *）

BDC SD ラットに[^{14}C]-TAF を 5 mg/kg で単回経口投与後の胆汁中排泄を検討した（試験番号 AD-120-2020）。試験の詳細は本項 4.1.2 章に記載した。投与後 168 時間までに、投与量の 72.6%、23.2%及び 2.11%がそれぞれ糞、尿及び胆汁中に排泄された。BDC ラットでの胆汁中及び尿中への放射能排泄率に基づき、少なくとも投与量の約 25%が吸収されたことが示された。放射能総回収率は 99.9%であった。

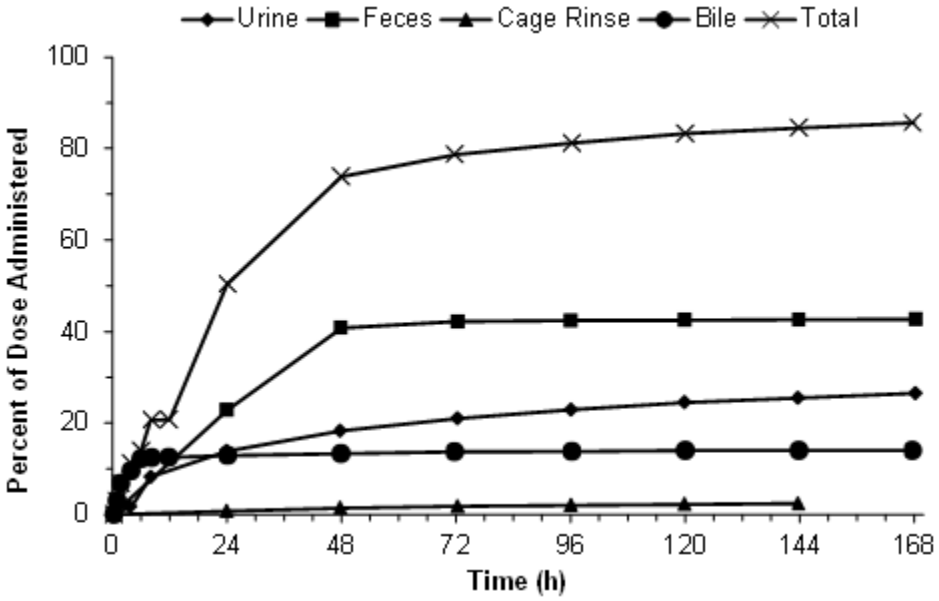
イヌでの排泄試験（本項 6.1.3 章）の一部として BDC イヌに[^{14}C]-TAF を 15 mg/kg で単回経口投与後の胆汁中排泄を検討した（試験番号 AD-120-2007）。試験の詳細は本項 6.1.3 章に記載した。投与後 168 時間までに投与量の 42.7%、26.5%及び 14.0%（いずれも平均値）がそれぞれ糞、尿及び胆汁中に排泄された（図 2.6.4- 11）。

胆汁及び尿中への排泄率から、少なくとも投与量の約 41%が吸収されたことが示された。BDC イヌでは、放射能の大部分が胆汁中に排泄されたことから、胆汁排泄がイヌにおける放射能の主要排泄経路の一つであることが示された。BDC イヌにおける放射能総回収率は 86.2%であった。放射能は、投与後 168 時間でも尿及び糞中で測定可能であったことから、低回収率の要因は放射能が屍体中に残留していたためであると考えられた。

ビーグル犬に 10 mg/kg の[^{14}C]-TFV を単回静脈内投与後の放射能の胆汁排泄率を評価した（試験番号 96-DDM-1278-002）。投与後 48 時間までの胆汁中への放射能総回収率は投与量の 0.26%であった。

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

図 2.6.4- 11　胆管カニューレ挿入イヌに[^{14}C]-TAFを 15 mg/kgで単回経口投与後の尿、糞、胆汁及びケージ洗浄液中累積排泄率



n=3, mean
(Source AD-120-2007 Figure3)

7　薬物動態学的薬物相互作用

TAF及びTFVの薬物動態学的薬物相互作用については、米国及び欧州の規制ガイドラインに基づいて評価した［10、11、12、13］。

TAF をヒトに経口投与後の TAF 及び TFV の PK パラメーターを表 2.6.4- 16 に示す。TAF の非結合型 C_{max} は、複数のヒト *ex vivo* 試験から得られた非結合型分率 20%に基づき算出した。*In vitro* で得られた TAF 非結合型分率は、これよりも若干高値であったが、*ex vivo* の値の方が臨床的に重要であると考えられたため、*ex vivo* で得られた値を使用した。

表 2.6.4- 16　TAFをヒトに経口投与後の定常状態でのTAF及びTFVのPKパラメーター

	TAF	TFV
Dose (mg)	25	-
Total C_{max} (µmol/L)	0.37	0.060
Unbound C_{max} (µmol/L) [a]	0.075	0.060
Intestinal (µmol/L)[b]	210	-
$C_{hep, inlet}$ [c]	0.72	-

a　Calculated based on percent unbound values of 20% for TAF (M2.7.2.2.5.1.1 and M2.7.2.2.5.1.2) and 99.3% for TFV (Section 4.2)
b　Estimated based on TAF 25 mg dose.
c　Estimated total hepatic inlet (portal vein) concentration calculated based on TAF 25 mg dose according to Obach et al. ［14］Absorption rate constant of 0.01 min^{-1} and human hepatic blood flow of 1500 mL/min were used for estimation.
(Source: Population PK Report, M2.7.2.3.2.1.2)

In vitro 試験系で、TAF が薬物相互作用を受ける可能性、又は引き起こす可能性を検討した。TAF 又はその代謝物による CYP 及び UGT1A1 阻害作用、CYP、UGT1A1 又は P-gp 誘導作用、並びに各トランスポーターの基質又は阻害剤となる可能性を評価した。また、TAF と併用される可能性のある抗ウイルス薬など、その他の薬物が TAF の消化管で安定性及び吸収に及ぼす影響も検討した。

7.1　CYP 阻害

（試験番号 AD-120-2003、添付資料 4.2.2.6.1、評価資料）
（試験番号 AD-120-2040、添付資料 4.2.2.6.2、評価資料）
（試験番号V990172-104、添付資料 4.2.2.6.3、参考資料 *）

TAF 及び TFV による CYP 阻害をヒト肝ミクロソームで検討した。

TAF（最大で 25 µmol/L）及び各 CYP 基質（CYP1A2：フェナセチン、CYP2B6：ブプロピオン、CYP2C8：パクリタキセル、CYP2C9：トルブタミド、CYP2C19：*S*-メフェニトイン、CYP2D6：デキストロメトルファン、CYP3A：ミダゾラム及びテストステロン）を肝ミクロソームに添加し、37°C でインキュベートした（試験番号 AD-120-2003）。インキュベート後の試料中代謝物濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。TAF による各 CYP 基質に対する阻害作用を 2.6.5.15A 項に示す。

TAF の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 25 µmol/L 超であった。TAF は CYP3A が関与するミダゾラム又はテストステロンの代謝に対する弱い阻害作用を示したが、IC_{50} 値はそれぞれ 7.6 又は 7.4 µmol/L であった。臨床薬物相互作用試験において、TAF は CYP3A 基質であるミダゾラム又はリルピビリンへの曝露量に影響を及ぼさなかったことから、この弱い CYP3A 阻害は、臨床的に意味のあるものではないと考えられた（2.7.2.2.6.1.3 項及び 2.7.2.2.6.1.4 項）。

また、TAF の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対する時間依存的阻害を検討した（試験番号 AD-120-2040）。ヒト肝ミクロソームに TAF を 50 µmol/L になるように添加し、37°C でインキュベート後、10 倍希釈したインキュベート溶液に各 CYP 基質（CYP1A2：エトキシリゾルフィン、CYP2B6：ブプロピオン、CYP2C8：パクリタキセル、CYP2C9：ジクロフェナック、CYP2C19：*S* -メフェニトイン、CYP2D6：デキストロメトルファン、CYP3A：ミダゾラム及びテストステロン）を添加し、37°C でインキュベートした。TAF による各 CYP 基質に対する阻害作用を 2.6.5.15B 項に示す。TAF はいずれの CYP 対しても時間依存的及び補酵素依存的阻害を示さなかった。検討した CYP の中で最大の阻害作用は CYP2C8 に対する 17.4%であった。

さらに、TFV（100 µmol/L）及び各 CYP 基質（CYP1A：7-エトキシクマリン、CYP2C9：トルブタミド、CYP2D6：デキストロメトルファン、CYP2E1：クロルゾキサゾン、CYP3A4：テルフ

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

ェナジン）をヒト肝ミクロソームに添加し、37°C でインキュベートした（試験番号 V990172-104）。TFV は CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4 を阻害しなかった（2.6.5.15C 項）。

7.2　UGT1A1 の阻害

（試験番号 AD-120-2006、添付資料 4.2.2.6.4、評価資料）

TAF（50 µmol/L まで）をヒト UGT1A1 発現系に添加し、37°C で 30 分インキュベートした。UGT1A1 の基質には 10 µmol/L エストラジオールを用い、エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体生成に対する阻害作用を検討した。インキュベーション後の試料中エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。その結果、TAF による UGT1A1 に対する IC_{50} 値は 50 µmol/L 超であり、UGT1A1 に対する阻害作用はないと考えられた（2.6.5.15D 項）。

7.3　肝酵素誘導

（試験番号 AD-120-2005、添付資料 4.2.2.6.5、評価資料）
（試験番号 AD-120-2032、添付資料 4.2.2.6.6、評価資料）

TAF の芳香族炭化水素受容体（AhR）及びプレグナン X 受容体（PXR）を介した薬物代謝酵素及びトランスポーターの誘導作用について検討した（試験番号 AD-120-2005）。TAF（0.15～50 µmol/L）の PXR 活性化の評価には、ヒト PXR の発現ベクターと CYP3A4 のエンハンサー領域をルシフェラーゼに結合させた配列を含むレポーター遺伝子ベクターを導入した DPX2 細胞を用いた。また、AhR 活性化の評価には、ヒト AhR 及びヒト CYP1A2 遺伝子のダイオキシン応答配列をルシフェラーゼレポーターに結合させた遺伝子の発現ベクターを導入した DRE12.6 細胞を用いた。PXR 及び AhR の陽性対照としてリファンピシン及び β-ナフトフラボン（いずれも 0.1～20 µmol/L）を用いた。TAF による PXR の活性化は TAF 15 及び 50 µmol/L で、リファンピシンによる最大誘導作用の 5%未満及び 23%にすぎなかった。TAF は、検討した最高濃度である 50 µmol/L まで、AhR を活性化しなかった。したがって、TAF は AhR 及び PXR を介した誘導作用を示さないと考えられた。

さらに、CYP、P-gp 及び UGT1A1 のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）並びに酵素活性に対する TAF の誘導作用を評価するために、3 例の異なるドナーから得られたヒト初代肝細胞をジメチルスルホキシド（DMSO）（0.1% v/v、溶媒対照）、TAF（1、10 及び 100 µmol/L）又は誘導剤（陽性対照）で 1 日 1 回 3 日間処理した（試験番号 AD-120-2032）。誘導剤には β-ナフトフラボン（UGT1A1：20 µmol/L）、オメプラゾール（CYP1A2：50 µmol/L）、フェノバルビタール（CYP2B6：1000 µmol/L）及びリファンピシン（CYP3A4：10 µmol/L）を用いた。溶媒対照、陽性対照及び TAF で 3 日間処理した細胞について、各 CYP 基質に対する代謝活性（CYP1A2：フェナセチン：O-脱エチル化、CYP2B6：ブプロピオン：水酸化、CYP3A4：テストステロン：6β-水酸化）を LC/MS/MS 法にて測定した。また、同一処理群の別の肝細胞から RNA を分離した。定量的 RT-PCR により mRNA を分析し、TAF による CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA

レベルに対する影響を評価した。さらに、MTT アッセイにより細胞傷害性を評価した。TAF 処理時の mRNA 濃度及び代謝活性の平均増加倍率を表 2.6.4- 17 に要約する。細胞傷害性を示す TAF 100 µmol/L では、細胞生存率が有意な影響を受け、TAF により肝細胞の mRNA レベルは上昇するが CYP 代謝活性は低下するという相反する反応がみられた。細胞傷害性を示さない TAF 濃度（1 及び 10 µmol/L）では、mRNA レベル及び CYP 活性の意義のある上昇は認められなかった。10 µmol/L の TAF で処理後、CYP1A2 及び CYP3A4 の mRNA 濃度は 3.0 倍及び 8.3 倍に上昇し、これはそれぞれの陽性対照による誘導作用の 4%及び 8%に相当した。したがって、TAF は、臨床的に意味のある濃度（1 µmol/L）において、ほとんど又は全く CYP を誘導しないことが示された。P-gp 及び UGT1A1 の mRNA の意義のある誘導作用は認められなかった（10 µmol/L 以下までは 2 倍未満）。さらに、TAF は臨床薬物相互作用試験においてミダゾラム又はリルピビリンへの曝露量に影響を及ぼさなかったことから、臨床的に意味のある誘導剤であるとは考えにくい（2.7.2.2.6.1.3 項及び 2.7.2.2.6.1.4 項）。

表 2.6.4- 17　TAFによるCYP活性及びmRNA誘導作用（平均値、3 ドナー）

	Mean Fold Increase (% Positive Control)					
	mRNA			Activity[c]		
Concentration	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A
1 µmol/L TAF	1.2 (<1%)	0.95 (<1%)	0.92 (<1%)	1.0 (<1%)	1.1 (<1%)	0.97 (<1%)
10 µmol/L TAF	3.0 (4%)	1.6 (5%)	8.3 (8%)	1.4 (1%)	0.85 (<1%)	0.99 (<1%)
100 µmol/L TAF[a]	6.9 (8%)	2.5 (10%)	44 (36%)	0.84 (<1%)	0.42 (<1%)	0.37 (<1%)
Positive control[b]	72	16	120	28	13	29

a　The viability of the hepatocytes was affected at this concentration of TAF and therefore caution should be taken when interpreting the corresponding induction data.
b　Positive controls 50 µmol/L omeprazole, 1000 µmol/L phenobarbital, and 10 µmol/L rifampin for CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A, respectively.
c　Phenacetin, bupropion, and testosterone were used as probe substrates for CYP1A2, 2B6, and 3A, respectively.
(Source AD-120-2032 Table 8 through Table 13)

7.4　TAF の代謝

（試験番号 AD-120-2027、添付資料 4.2.2.4.4、評価資料）
（試験番号 AD-120-2031、添付資料 4.2.2.6.7、評価資料）

経口投与された TAF は、消化管から吸収されるため、TAF が消化管エステラーゼ及び／又は CYP によって代謝される可能性がある。そこで、小腸細胞画分において、TAF の安定性に及ぼす HIV-1 PI 及び CYP 阻害剤の影響を検討した（試験番号 AD-120-2027）。ヒト小腸 S9 画分に TAF（3 µmol/L）とアタザナビル又はダルナビル（HIV-PI、25 及び 100 µmol/L）、リトナビル又は COBI（CYP 阻害剤、25 及び 100 µmol/L）、ジクロルボス（消化管エステラーゼ阻害剤、

500 µmol/L）を添加し、37°C で 120 分インキュベートした。この結果、TAF の安定性に対する HIV-PI 及び CYP3A 阻害剤による顕著な影響は認められなかった（表 2.6.4- 18）。

表 2.6.4- 18　TAFのヒト小腸S9 画分における他剤による阻害作用

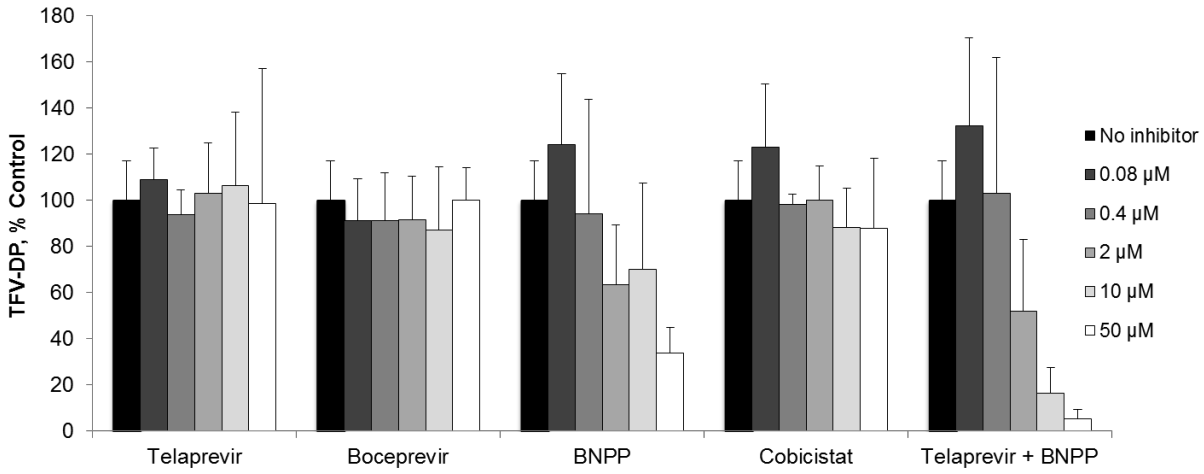
Inhibitor	Concentration (µmol/L)	Intestinal S9 Stability[a] $t_{½}$ (min)
Vehicle control	0	24.5 ± 4.1
Atazanavir	25	28.9 ± 5.2
	100	38.9 ± 5.3
Darunavir	25	32.2 ± 5.1
	100	30.8 ± 5.0
Ritonavir	25	19.0 ± 2.8
	100	18.9 ± 1.5
Cobicistat	25	30.1 ± 5.1
	100	32.9 ± 4.8
Dichlorvos	500	> 789[b]

a　Data are mean ± standard deviation, n = 2 (6 data points per replicate)
b　Less than 10% loss of substrate in 120 minutes

(Source AD-120-2027 Summary Table)

また、ヒト初代肝細胞でのTAF活性化に関与する酵素を明らかにするため、TAFと共に、既知のCatA阻害剤（テラプレビル及びboceprevir）、CES1 阻害剤（ビスp-ニトロフェニルフォスフェート、BNPP）、CYP3A4 及びP-gp阻害剤（COBI）、又はテラプレビル + BNPPを細胞に添加し、インキュベートした（試験番号AD-120-2031）。図 2.6.4- 12 に示すように、TAFの代謝は、BNPPによって用量依存的に阻害された。テラプレビル、boceprevir又はCOBIによるTFV-DP生成への影響は、ほとんど又は全く認められなかった。テラプレビルとBNPPを併用した場合、これら 2 化合物の濃度が上昇するほどBNPP単剤に比べ大きな阻害が認められた。以上の結果から、ヒト初代肝細胞において、TAFは主にCES1 によって加水分解され、CatAも関与することが示された。CES1 には遺伝子多型がいくつか同定されているが、頻度は非常に低い。G143Eのヘテロ接合体は 2%～4%、ホモ接合体は 0.05%、並びにD260fsの発現頻度は非常に稀である［15、16］。B型肝炎ウイルス感染被験者の試験において、合計 42/51 例（82.4%）の患者でCES1 のrs71647871（G143E）変異に関する遺伝子型判定を実施した結果、全ての患者は、標準ホモ接合体遺伝子型を保有しており、マイナーアレルの保有者はいなかった。さらに、TAFは肝臓においてCES1 とCatAの両者によって活性化されるため、CES1 の遺伝子多型がTAFの活性化に著しい影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

図 2.6.4- 12　ヒト初代肝細胞でのTAFの細胞内活性化における
エステラーゼ及びCYP阻害剤による影響



(Source AD-120-2031 Figure 2)

7.5　TAF 及び TFV のトランスポーターを介した薬物相互作用

In vitro において、TAF 及び TFV が薬物トランスポーターを阻害する可能性、又は薬物トランスポーターの基質となる可能性を評価した。検討したトランスポーターについて、阻害定数及び基質評価を表 2.6.4- 19 に要約する。TAF は、P-gp、BCRP、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質の輸送をほとんど又は全く阻害しなかった（試験番号 AD-120-2019 及び AD-120-2036）。なお、OATP1B1、OATP1B3、BSEP、OCT1 及び MATE1 に対する弱い阻害が認められたが、これらのトランスポーターのうち、最高総血漿中濃度（178 ng/mL、Population PK Analysis report）の 200 倍以上に相当する 100 µmol/L において 50%阻害されたものはなかった。したがって、TAF がトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こすとは考えにくい。

表 2.6.4- 19　TAF及びTFVの各トランスポーターの基質／阻害剤

Transporter	Substrate Potential (y/n)		Inhibition Potential, IC_{50} (μmol/L)		Report
	TAF	TFV	TAF	TFV	
P-gp	y	n	>100	>1000	AD-120-2018 AD-236-2004 AD-120-2019 AD-236-2003
BCRP	y	n	>100	>100	AD-120-2018 AD-236-2005 AD-120-2019 AD-236-2003
BSEP	ND	ND	>100	>100	AD-236-2008 AD-120-2036
OATP1B1	y	ND	>100	>100	AD-120-2022 AD-120-2019 AD-236-2006
OATP1B3	y	ND	>100	>100	AD-120-2022 AD-120-2019 AD-236-2006
MATE1	ND	ND	>100	>300	AD-120-2036 AD-104-2012
OAT1	n	y	>100	ND	PC-104-2010 AD-120-2036
OAT3	n	y	>100	>1000	PC-104-2011 AD-120-2036 PC-103-2001
OCT1	n	n	>100	>100	AD-120-2036 PC-103-2001 AD-236-2008
OCT2	ND	n	>100	>300	AD-236-2011 AD-120-2036 PC-103-2001 AD-104-2012
MRP1	ND	n	ND	>500	PC-104-2014
MRP2	ND	n	ND	>100	AD-104-2001
MRP4	ND	y[a]	ND	ND	AD-104-2001

BCRP = breast cancer resistance protein; BSEP = bile salt excretory pump; MATE1 = multidrug and toxin extrusion protein 1; P-gp = P-glycoprotein; MRP1, 2 or 4 = multidrug resistance associated protein 1, 2 or 4; ND = not determined; OAT1 or 3 = organic anion transporter 1 or 3; OATP1B1 or B3 = organic anion transporting polypeptide 1B1 or 1B3; OCT1 or 2 = organic cation transporter 1 or 2

a　Imaoka et al 2007［17］

7.5.1　P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3

7.5.1.1　TAF

（試験番号 AD-120-2018、添付資料 4.2.2.6.8、評価資料）
（試験番号 AD-120-2013、添付資料 4.2.2.6.9、評価資料）
（試験番号 AD-120-2035、添付資料 4.2.2.6.10、評価資料）
（試験番号 AD-120-2022、添付資料 4.2.2.6.11、評価資料）
（試験番号 AD-120-2042、添付資料 4.2.2.6.12、評価資料）
（試験番号 AD-120-2019、添付資料 4.2.2.6.13、評価資料）

TAF が P-gp 及び BCRP の基質であるかどうかを検討した。P-gp 又は BCRP を発現させたイヌ腎臓尿細管上皮細胞由来 II（MDCKII-MDR1 又は MDCKII-BCRP）細胞及び非発現 MDCKII（MDCKII-WT）細胞に TAF を添加し、37°C で 2 時間までインキュベートしたときの頂端膜側から基底膜側（forward 方向）及び基底膜側から頂端膜側（reverse 方向）の双方向の輸送を評価した（試験番号 AD-120-2018）。また、P-gp の阻害剤である CsA（10 µmol/L）及び BCRP の阻害剤である Ko134（10 µmol/L）存在下での輸送も確認した。TAF 濃度は LC/MS/MS 法で測定した。結果を 2.6.5.15H 項に示す。

TAF の efflux ratio は MDCKII-WT では 4.8 であったが、MDCKII-MDR1 では 13.8 倍の 66.2 に上昇した。また、P-gp 阻害剤である CsA（10 µmol/L）存在下での efflux ratio が 5.6 に減少したことから、TAF は P-gp の基質であることが示唆された。BCRP についても、MDCKII-WT での efflux ratio は 4.8 であったが、MDCKII-BCRP では 6.2 に上昇し、BCRP 阻害剤である Ko134（10 µmol/L）存在下での efflux ratio が 1.4 に減少したことから、TAF は BCRP の基質であることが示唆された。

P-gp 阻害剤である COBI による TAF 膜透過への影響を検討した（試験番号 AD-120-2013）。Caco-2 単層膜細胞に TAF（10 µmol/L）及び COBI（90 µmol/L）を添加して、37°C で 2 時間までインキュベートした。TAF の forward 方向の膜透過性は COBI 非存在下で低く、efflux ratio は 20 であったが、COBI 存在下での efflux ratio は 1.6 に低下し、forward 方向の膜透過性が上昇した（表 2.6.4- 20）。

表 2.6.4- 20　Caco-2 細胞でのCOBIのTAF膜透過性に対する影響

Inhibitor	Direction	TAF Initial Concentration (µmol/L)	Recovery (%)	Papp ($x10^6$ cm/s)	Efflux Ratio
None	Cell Free	9.61	119	30.8	-
	Forward	9.92	64	0.74	20
	Reverse	8.71	102	15.1	
COBI (90 µmol/L)	Forward	11.0	101	3.1	1.6
	Reverse	11.4	115	4.9	

(Source AD-120-2013 Table1)

また、イヌでの TAF の F に対する P-gp 阻害剤である CsA の影響を検討した（試験番号 AD-120-2035）。雄イヌに 1）TAF 0.5 mg/kg を静脈内投与、2）絶食下で CsA 75 mg を経口投与 1 時

間後に TAF を 2 mg/kg で経口投与、3）TAF を 2 mg/kg で経口投与した。CsA 前処置群では、未処置群に比べて TAF の F が 10 倍上昇したが、TFV の PK プロファイルに対する影響はわずかに上昇する程度であった（表 2.6.4- 21）。なお、CsA 前処置群の PBMC 中 TFV-DP 濃度は未処置群に比べて 2 倍に上昇した。

表 2.6.4- 21　雄イヌにTAF及びTFVを経口投与後の血漿中PKパラメーター

Parameters	No CsA Pretreatment		Pretreatment with 75 mg CsA	
	TAF	TFV	TAF	TFV
$AUC_{0\text{-}t}$ (nmol/L·h)	31.4	1140	312	1330
t_{max} (h)	0.14	0.667	0.24	1.0
C_{max} (nmol/L)	109	342	813	187
$t_{½}$ (h)	0.21	>24	0.15	>24
F (%)	1.67	NA	16.6	NA

NA = Not applicable

(Source AD-120-2035 Table2, Table3, Table5, Table6)

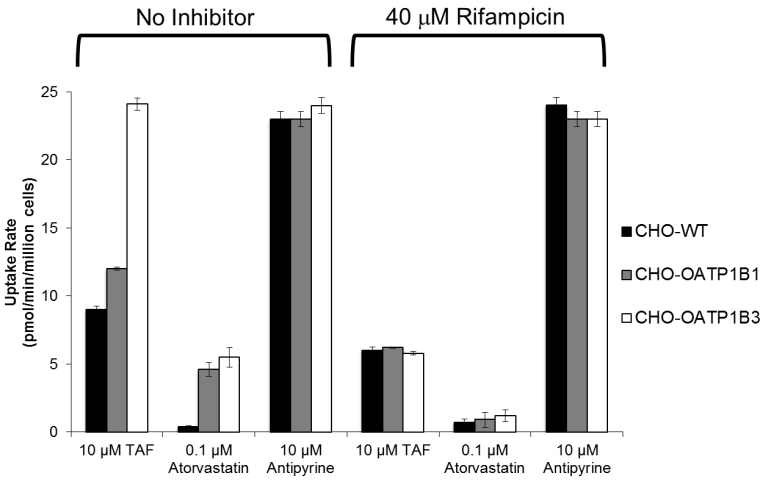
TAF はヒト初代肝細胞に効率よく取り込まれて代謝されることから、TAF が肝取込みトランスポーター（OATP1B1 及び OATP1B3）の基質であるかどうかの検討を行った。

OATP1B1 及び 1B3 を発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞に TAF を 10 µmol/L で添加し、1 分間インキュベートした（試験番号 AD-120-2022）。陽性対照としてアトルバスタチン（能動輸送）及びアンチピリン（受動輸送）を用いた。図 2.6.4- 13 に示すように TAF は非発現 CHO 細胞に効率的に取り込まれ、取り込み速度は 9.0 pmol/min/10^6 cells であったことから、TAF の受動輸送は高いことが示された。しかし、OATP1B1 又は OATP1B3 発現 CHO 細胞で、TAF の取り込み速度は更に高く、それぞれ 12.0 又は 24.1 pmol/min/10^6 cells であり、このトランスポーター依存性取り込みは、OATP の阻害剤であるリファンピシンによって阻害された。すなわち、細胞内蓄積性はコントロール（非発現 CHO 細胞）の 1.3 及び 2.7 倍であり、リファンピシン（40 µmol/L）存在下での取り込み速度が、OATP1B1 又は OATP1B3 発現 CHO 細胞でそれぞれ 48%及び 76%減少した。これらのことから、TAF は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であると考えられた。

ヒト初代肝細胞への TAF の取り込みにおける OATP1B1 及び OATP1B3 の寄与を評価した（試験番号 AD-120-2042）。4 例の異なるドナーの肝細胞にリファンピシン 20 µmol/L を添加して 30 分プレインキュベーション後に TAF を 0.5 µmol/L になるように添加し、60 分までインキュベートした。インキュベート後の細胞内 TFV-DP 濃度は LC/MS/MS で測定した。その結果、リファンピシン存在下で TAF の取り込みは 13%阻害された。OATP の基質であるボセンタンではリファンピシンによる阻害率は 38%であったことから、TAF の肝細胞への取り込みにおける OATP の寄与は小さいことが示唆され（図 2.6.4- 14）、TAF の肝取り込みは主に受動拡散によるものと考えられた。したがって、輸送活性に影響を及ぼすこれらのトランスポーターの阻害又は遺伝子多型によって、TAF の曝露量が若干影響を受ける可能性はあるが、TAF の受動的透過性が高いことを考

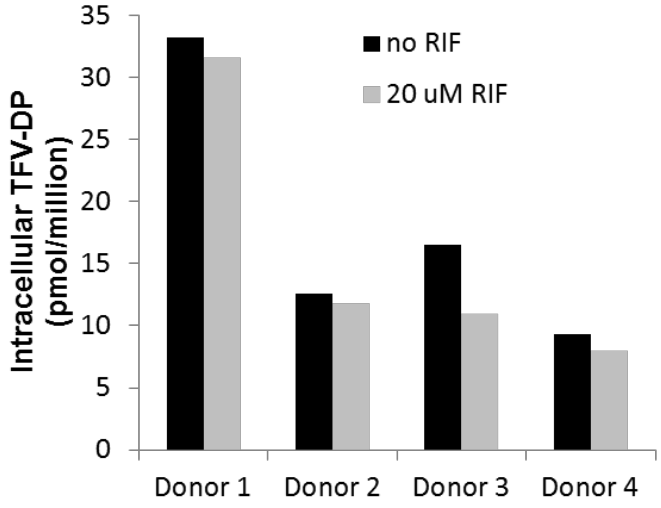
慮すると、OATP1B1 及び OATP1B3 活性の変動は臨床的に意味のある影響を及ぼさないと予想される。

図 2.6.4- 13　OATP1B1 及びOATP1B3 によるTAFの取り込み



(Source AD-120-2022 Table 2, Table 3, Table 4)

図 2.6.4- 14　ヒト初代肝細胞でのTAF取込みへのリファンピシンの影響



(Source AD-120-2042 Figure 2)

TAF の P-gp、BCRP 及び OATP1B1/1B3 に対する阻害作用を検討した（試験番号 AD-120-2019）。MDCKII-MDR1 又は MDCKII-BCRP 細胞に、カルセイン AM（10 μmol/L）及び TAF（0.41～100 μmol/L）を添加し、1 時間インキュベートした。また、OATP1B1 又は OATP1B3 発現 CHO 細胞に、Fluo3（2 μmol/L）及び TAF（0.14～100 μmol/L）を添加し、1 時間インキュベートした。インキュベート後の試料中薬物濃度は蛍光検出器で測定した。TAF は 100 μmol/L まで P-gp 及び BCRP に対する阻害作用を示さなかったが、100 μmol/L で OATP1B1 及び 1B3 の取り込みを 29.8%及び 25.5%阻害し、弱い阻害作用を示した。

7.5.1.2　　TFV

（試験番号 AD-236-2004、添付資料 4.2.2.6.14、評価資料）
（試験番号 AD-236-2005、添付資料 4.2.2.6.15、評価資料）
（試験番号AD-104-2002、添付資料 4.2.2.6.16、参考資料 *）
（試験番号 AD-236-2003、添付資料 4.2.2.6.17、評価資料）
（試験番号 AD-236-2006、添付資料 4.2.2.6.18、評価資料）

MDCKII-MDR1 細胞及び MDCKII-WT 細胞に TFV を添加し、37°C で 2 時間までインキュベート後の頂端膜側から基底膜側（forward 方向）及び基底膜側から頂端膜側（reverse 方向）の双方向の輸送を検討した（試験番号 AD-236-2004）。また、P-gp の阻害剤である CsA（10 µmol/L）存在下での輸送も確認した。TFV 濃度は LC/MS/MS 法で測定した。結果を 2.6.5.15N 項に示す。

TFV の efflux ratio は MDCKII-WT では 1.5、MDCKII-MDR1 でも 1.0 であった。P-gp 阻害剤である CsA 存在下の efflux ratio も 1.5 であったことから、TFV は P-gp の基質ではないことが示唆された。

MDCKII-BCRP 細胞及び MDCKII-WT 細胞に TFV を添加し、37°C で 2 時間までインキュベート後の頂端膜側から基底膜側及び基底膜側から頂端膜側の双方向の輸送を検討した（試験番号 AD-236-2005）。また、BCRP の阻害剤である Ko134（10 µmol/L）存在下での輸送も確認した。TFV 濃度は LC/MS/MS 法で測定した。結果を 2.6.5.15O 項に示す。

TFV の efflux ratio は MDCKII-WT では 1.5、MDCKII-BCRP で 2.3 であり、その差は 2 倍以内であった。また、BCRP 阻害剤である Ko134 存在下の efflux ratio も 3.4 であったことから、TFV は BCRP の基質ではないことが示唆された。

Caco-2 細胞に TFV（5 µmol/L）を添加し、双方向の輸送を検討した（試験番号 AD-104-2002）。また、P-gp の阻害剤である CsA（10 µmol/L）存在下での輸送も検討した。CsA 存在下での TFV の efflux ratio は約 1 で、CsA の影響をうけないことから、TFV は P-gp の基質でないことが示唆された。さらに、MDCKII-MDR1 細胞に P-gp の基質であるカルセイン AM（10 µmol/L）及び TFV（1000 µmol/L まで）を添加し、TFV の P-gp 阻害作用を検討した。その結果、TFV は 1000 µmol/L まで P-gp を阻害しないと考えられた（2.6.5.15P 項）。

MDCKII-BCRP 及び MDCKII-WT 細胞に TFV（0.41～100 µmol/L）及び BCRP の基質であるフェオフォルビド（1 µmol/L）を添加し、37°C で 18 時間インキュベートした（試験番号 AD-236-2003）。インキュベート後の基質濃度は蛍光検出器で測定した。TFV は BCRP に対して濃度依存的な阻害を示さず、IC_{50} 値は 100 µmol/L 超と考えられた（2.6.5.15Q 項）。

OATP1B1 又は OATP1B3 発現 CHO 細胞に基質である Fluo3（2 µmol/L）及び TFV を添加し、37°C で 1 時間インキュベートした（試験番号 AD-236-2006）。インキュベート後の基質濃度は蛍光検出器で測定した。TFV は高濃度においても OATP1B1 及び 1B3 に対して、ほとんど又は全く

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

阻害作用を示さず、最高濃度である 100 µmol/L での阻害率は OATP1B1 で 37%、OATP1B3 で 32%であった。IC_{50} 値は 100 µmol/L 超と考えられた（2.6.5.15R 項）。

7.5.2　その他のトランスポーター

7.5.2.1　TAF の OAT、OCT 及び MATE1 を介した薬物相互作用

（試験番号 AD-120-2036、添付資料 4.2.2.6.19、評価資料）

TAF の OAT1/3、OCT1/2、MATE1 及び BSEP に対する阻害作用を検討した。実験条件を表 2.6.4- 22 に、結果を 2.6.5.15S 項に示した。

表 2.6.4- 22　TAFのOAT1/3、OCT1/2、MATE1 及びBSEPに関する試験の実験条件

Transporter	Transfected cell	Substrate
OAT1	CHO	PAH
OAT3	Flp-In 293	Estrone 3-Sulfate
OCT1	CHO	TEA
OCT2	CHO	TEA
MATE1	CHO	TEA
BSEP	Sf9 cell membrane vesicles	Taurocholate

PAH = p- Aminohippuric acid, TEA = tetraethylammonium, Sf9 = Spodoptera frugiperda ovarian cells

TAF 100 µmol/L での OAT1、OAT3、OCT1、MATE1 及び BSEP に対する阻害率は 8%、16%、26%、34%及び 43%であった。OCT2 に対する阻害はみられなかった。なお、これらトランスポーターに対する IC_{50} 値はいずれも 100 µmol/L 超であると考えられた。また、OCT1 発現 CHO 細胞及び WT 細胞に TAF が 1 及び 10 µmol/L になるように添加し、37°C で 2 及び 20 分インキュベートした。OCT1 発現 CHO 細胞における TAF の取り込みがみられなかったことから、TAF は OCT1 の基質ではないと考えられた。TFV とは異なり、TAF は、腎トランスポーターである OAT1 及び OAT3 の基質ではなかった（2.6.2.3.2.4.1 項）。

7.5.2.2　TFV の OAT、OCT、BSEP 及び MRP を介した薬物相互作用

（試験番号PC-103-2001、添付資料 4.2.2.6.20、参考資料 *）
（試験番号 PC-104-2010、添付資料 4.2.2.6.21、参考資料*）
（試験番号 PC-104-2011、添付資料 4.2.2.6.22、評価資料）
（試験番号 AD-236-2011、添付資料 4.2.2.6.23、評価資料）

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

（試験番号 AD-236-2008、添付資料 4.2.2.6.24、評価資料）
（試験番号PC-104-2014、添付資料 4.2.2.6.25、参考資料 *）
（試験番号 AD-104-2001、添付資料 4.2.2.6.26、参考資料*）
（試験番号 AD-104-2012、添付資料 4.2.2.6.27、参考資料*）

TFV の排泄経路は、糸球体濾過と尿細管分泌による腎排泄である。TFV の腎分泌に関与するトランスポーター及びこれらのトランスポーターを介した薬物相互作用の可能性を検討するために、TFV について様々な取り込み及び排出トランスポーターでの *in vitro* 試験を実施した。

OCT1、OCT2 又は OAT3 を発現させたアフリカツメガエルの卵母細胞（2 匹より調製）に[^{3}H]-TFV が 10 µmol/L になるように添加し、これらトランスポーターの阻害剤であるキニーネ（100 µmol/L、OCT1 及び OCT2）又はプロベネシド（500 µmol/L、OAT3）の存在下／非存在下、18～22°C で 60 分間インキュベートした。インキュベート後の試料中放射能は LSC にて測定した（試験番号 PC-103-2001）。OCT1 又は OCT2 発現細胞及び WT 細胞での TFV の取り込みに差がないこと、阻害剤であるキニーネ存在下及び非存在下での TFV の取り込みに差がないことから、TFV は OCT1 及び OCT2 の基質ではないと考えられた。また、OCT2 発現 CHO 細胞に TFV が 1 及び 10 µmol/L になるように添加し、37°C で 2 及び 20 分間インキュベートした（試験番号 AD-236-2011）。TFV の OCT2 発現細胞における蓄積率は 2 以下であったことから、TFV は OCT2 の基質ではないと考えられた（2.6.5.15W 項）。

一方、OAT3 発現細胞では WT 細胞に比べて取り込みが 9.4～37 倍上昇したこと、プロベネシド存在下での TFV の取り込みが減少したことから、TFV は OAT3 の基質であると考えられた（試験番号 PC-103-2001）。OAT3 発現細胞に[^{3}H]-エストロン硫酸（1 µmol/L）及び TFV（50～1000 µmol/L）を添加して室温で 60 分間インキュベートした。インキュベート後の試料中放射能は LSC にて測定した。その結果 TFV は 1000 µmol/L でエストロン硫酸の取り込みを 38%阻害した。TFV による IC_{50} 値は 1000 µmol/L 超であると考えられた（2.6.5.15T 項）。

TFVのOAT1（試験番号PC-104-2010）及びOAT3（試験番号PC-104-2011）を介した尿細管分泌における輸送が、他剤によって阻害されるかどうかを検討した。OAT1 発現CHO細胞に[^{3}H]-TFV（1.2 µmol/L）及び併用されると考えられるHIV PIを含む他剤（いずれも臨床用量でのC_{max}の 0.33、1 及び 3 倍濃度）を添加し、50%ヒト血清の非存在／存在下、37°Cで 20 分インキュベートした。インキュベート後の試料中放射能はLSCにて測定した。ヒト血清非存在下ではPIによる阻害がみられたものの、50%ヒト血清存在下では検討したいずれの薬剤もOAT1 を介したTFVの輸送を阻害しなかった。同様にOAT3 発現BHK細胞に[^{3}H]-TFV（1.2 µmol/L）及びHIV PI（いずれも臨床用量でのC_{max}の 0.5、1 及び 2 倍濃度）を添加し、40%ヒト血清の非存在／存在下、37°Cで 60 分インキュベートした。インキュベート後の試料中放射能はLSCにて測定した。ヒト血清非存在下ではリトナビル、ネルフィナビル、アンプレナビル及びロピナビル／リトナビル併用で阻害がみられたものの、40%ヒト血清存在下ではリトナビルでのみOAT3 を介したTFVの輸送を 34%

* ：テノゼット錠®300mg 承認申請時に提出済み

阻害した。本試験ではTFVのOAT3 に対する親和性を検討し、ミカエリス定数（Km）は 767 µmol/Lと算出され、OAT1（Km値 34 µmol/L）よりも親和性は低いと考えられた。なお、TFV のOAT1 及びOAT3 に対するKmは 33.8 及び 770 µmol/Lである［18、19］。

TFV の OCT1、BSEP に対する阻害作用を検討した（試験番号 AD-236-2008）。OCT1 発現 CHO 細胞に基質である[^{14}C]-塩化テトラメチルアンモニウム（TEA、3.6 µmol/L）及び TFV（0.14～100 µmol/L）を添加し、37°C で 10 分間インキュベートした。また、BSEP を発現させた膜ベシクルに基質であるタウロコール酸（2 µmol/L）及び TFV（0.14～100 µmol/L）を添加し、37°C で 15 分間インキュベートした。その結果、TFV は OCT1 及び BSEP を介した TEA 及びタウロコール酸の輸送を 100 µmol/L まで阻害せず、IC_{50} は 100 µmol/L 超であると考えられた（2.6.5.15X 項）。

MRP1 発現 MDCKII 細胞に基質であるカルセイン AM（10 µmol/L）及び TFV（10、100 及び 500 µmol/L）を添加して 37°C で 1 時間インキュベートした結果、TFV は 500 µmol/L でも MRP1 を阻害しなかった（試験番号 PC-104-2014、2.6.5.15Y 項）。

TFV の MRP2 及び MRP4 に対する阻害作用を検討した（試験番号 AD-104-2001）。MRP2 発現卵巣がん細胞にカルセイン AM（10 µmol/L）及び TFV（10 及び 100 µmol/L）を添加し、1 時間インキュベートした結果、TFV 100 µmol/L でも MRP2 を阻害しなかった。また、コントロールとの比較から、TFV は MRP2 の基質ではないと考えられた。一方、MRP4 については、MRP4 発現 T-leukemic CEM-R1 lymphoblast 細胞内濃度がコントロールに比べて 5 倍低かったことから、TFV は MRP4 の基質であることが示唆された（2.6.5.15Z 項）。

TFV の OCT2、MATE1 に対する阻害作用を検討した（試験番号 AD-104-2012）。OCT2 発現 CHO 細胞に基質である[^{14}C]-TEA（3.6 µmol/L）及び TFV（0.41～300 µmol/L）を添加し、37°C で 5 分間インキュベートした。また、MATE1 発現 CHO 細胞に基質である[^{14}C]-TEA（3.6 µmol/L）及び TFV（0.41～300 µmol/L）を添加し、37°C で 20 分間インキュベートした。TFV は最高濃度で 300 µmol/L まで、OCT2 に対する阻害作用を示さなかったが、TFV 300 µmol/L で MATE1 を介した TEA の輸送を約 20%阻害した（2.6.5.15AA 項）。

8　その他の薬物動態試験

報告すべきその他の試験はない。

9　考察及び結論

マウス、ラット、イヌ及びサルでの TAF を経口投与後の PK 及び TK 試験の評価から、毒性試験で選択した動物種での TAF 及び／又は TFV の曝露は十分であると考えられた。

In vitro 試験で濃度依存的な膜透過性が認められたことと一致して、イヌにおける TAF の F は用量の増加に伴い増加し、10 mg/kg 投与時の F は 14.3%であった［7］。BDC イヌに 15 mg/kg で[^{14}C]-TAF を経口投与後の尿及び胆汁への排泄率から算出される吸収率は、少なくとも 41%であった。したがって、肝抽出率は約 65%と算出され、これは、イヌ肝 S9 画分を用いた *in vitro* 代謝

安定性試験から推定された値（60.5%）と一致した。イヌに TAF を経口投与後、肝臓において高濃度の活性代謝物である TFV-DP が検出され、$t_{1/2}$は 20 時間超であった。また、*in vitro* において、ヒト初代肝細胞で TAF をインキュベート後の細胞内 TFV-DP 濃度は高く、TDF 又は TFV をインキュベートしたときのそれぞれ 5 倍及び 120 倍であった。細胞内 TFV-DP の $t_{1/2}$は 24 時間超と推定され、イヌ肝臓での長い TFV-DP の $t_{1/2}$と一致した［6］。TFV について得られた PK パラメーターを表 2.6.4- 23 に要約する。

[^{14}C]-TAF をマウス、ラット及びイヌに経口投与後の放射能は、いずれの動物種でも、各組織に広範に分布した。肝臓で高濃度の放射能が認められ、これは高い肝抽出率と一致した。腎臓でも高濃度の放射能が検出された。マウスにおいて、脳及び精巣中放射能濃度は低かった。有色マウスにおけるブドウ膜及び有色皮膚への分布から、放射能はメラニン含有組織に選択的に結合しないことが示唆された。ラットにおいてメラニンへの結合は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌでの *in vivo* 代謝を検討し、ヒトと比較した。ヒトを含む全ての動物種において、ヒポキサンチン、キサンチン、アラントイン及び尿酸などの内因性プリン代謝物が検出された。ヒト血漿を除いて、全ての動物種の血漿、尿及び糞中における TAF 関連物質の大部分を占めるのは TFV であった。ヒト血漿中では尿酸が主代謝物であり、96 時間までの生成量は総 AUC の 73.9%を占めた。ヒト特有の代謝物は認められなかった。さらに、ヒトでは、TAF から TFV への中間代謝物［M18（イソプロピルアラニニルが付加した TFV）及び M28（TFV-Ala）など］の生成は認められなかった。ヒト初代肝細胞及び PBMC において、TAF から TFV への細胞内代謝に関与する主要な酵素は、それぞれ CES1 及び CatA である。TFV は更に、細胞内ヌクレオチドキナーゼによって活性代謝物である TFV-DP にリン酸化される。これらの代謝過程は、通常は低親和性／高活性であり、他剤により容易には阻害されない。

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-TAF を経口投与後、全ての動物種で放射能の大部分は糞中又は尿中に排泄された。BDC イヌでは、放射能が胆汁中に多く排泄されたことから、胆汁排泄がイヌにおける放射能の主な排泄経路の一つであることが示された。全ての動物種において、放射能総回収率は高かった。

TAF は、*in vitro* において認められた CYP3A に対する弱い阻害を除いて、UGT1A1 及び CYP を阻害しなかった。また TAF の *in vitro* における CYP3A に対する弱い阻害は、臨床薬物相互作用試験において CYP3A の基質であるミダゾラム又はリルピビリンの曝露に影響を与えなかったことから、臨床的に意味のある阻害作用ではないと考えられた。TAF は、CYP、UGT1A1 又は P-gp に対して、臨床的に意味のある誘導作用を示さなかった。また、TAF がトランスポーターを介した薬物動態学的薬物相互作用を引き起こすとは考えにくい。TAF は、消化管排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP の基質であるため、これらトランスポーターの阻害剤及び／又は誘導薬によって TAF の曝露量が影響を受ける可能性がある。*In vitro* において、排出トランスポーターの阻害剤である CsA 又は COBI 存在下において、TAF の吸収が増加した。*In vivo* において、TAF の F に及ぼす CsA の影響をイヌにおいて評価したところ、CsA 前投与により TAF の F が約 10 倍に増大した。このように、排出トランスポーター阻害剤との併用によって TAF の吸収が増加する可能性が示唆される。

TAF は、肝取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であるが、肝細胞への TAF の取り込みに対するこれらのトランスポーターの寄与が少なく、TAF の受動的透過性が高いことを考えると、輸送活性の変化は臨床的に意味のある影響を及ぼさないと予想される。

TAFは、腎トランスポーターであるOAT1 及びOAT3 の基質ではなかった。*In vitro*試験の結果から、TFVの尿細管分泌には、近位尿細管におけるOAT1（基底膜側取り込み）及びMRP4（頂端膜側排出）が関与することが示された［18、20］。OAT3 もTFVの尿細管取り込みに副次的役割を果たす可能性がある。P-gp又はMRP2 は、いずれもTFVの尿細管排出に関与しないと考えられた。TFVの尿細管取り込みを担う主要トランスポーターとして、TFVとその他の治療薬（抗生物質、抗炎症薬及びPIなどのその他の抗ウイルス薬など）との薬物相互作用におけるOAT1 を介した薬物相互作用を評価した。検討した薬物はいずれもOAT1 を介したTFV輸送に影響を及ぼさなかったことから、腎臓でTFVとの相互作用が生じる可能性は低いことが示された［18］。TFVと異なり、TAFはOAT1 及びOAT3 の基質ではないことから、腎尿細管細胞へのTFVの輸送はないと考えられる。そのため、腎細胞におけるTFV濃度は血漿中TFV濃度と相関すると考えられ、血漿中TFV濃度はTDF投与後に比べてTAF投与後の方が約 90%低い。TFVの尿細管再吸収における MRP1 の寄与を検討した*in vitro*試験の結果から、MRP1 は近位尿細管細胞の基底膜側における TFVの再吸収に関与しないことが示された。

TFV は、ヒト OCT2 又は MATE1 の活性を阻害しなかったことから（IC_{50} > 300 µmol/L）、TFV がこれらのトランスポーターを阻害することによって薬物相互作用を引き起こすとは考えにくい。

以上のことから、TAF は肝抽出率が高く、肝細胞において活性代謝物である TFV-DP に効率的に代謝される。非臨床薬物動態試験での TAF の薬物動態評価によって、B 型慢性肝炎の治療における本剤の使用が裏付けられた。

表 2.6.4- 23　TFVを静脈内投与後のPKパラメーターの比較（平均値）

Species Study No.	Rat* R2000075 [21]		Dog D2000076 [22], 97-DDM-4331-001 [23]		Rhesus P2000031 [8]		Human GS-96-701 [24]	
Dose (mg/kg)	10	50	1	10	5	30	1	3
N (sex)	4M	4M	4M	4M	3M/3F	3M/3F	8M	8M
C_{max} (µg/mL)	22.0	162	2.99	31.0	13.8	79.0	2.71	8.52
AUC_{inf} (µg·h/mL)	5.86	53.7	4.48	41.2	5.12	38.4	4.41	15.2
Terminal $t_{½}$ (h)	4.02	5.41	45.3	38.6	5.37	8.79	5.27	7.80
CL (mL/h/kg)	1706	931	226	244	1065	816	236	229
C_{last} (µg/mL)	0.0309	0.0428	0.0017	0.0103	0.0042	0.0062	0.0426	0.0508
T_{last} (h)	12.0	24.0	120	120	24.0	38.0	12.0	24.0
V_{ss} (mL/kg)	2810	1120	3090	2510	1296	877	763	975

N = number; h = hour(s); C_{last} = last quantifiable concentration; T_{last} = sample time that corresponds with the last quantifiable concentration
*: median

10　参考文献

1　Yokota T, Konno K, Shigeta S, Holy A, Balzarini J, De Clercq E. Inhibitory effects of acyclic nucleoside phosphonate analogues of hepatitis B virus DNA synthesis in HB611 cells. Antivir Chem Chemother 1994; 5 (2):57-63. (4.3.102)

2　Cherrington JM, Allen SJW, Bischofberger N, Chen MS. Kinetic interaction of the diphosphates of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine and other anti-HIV active purine congeners with HIV reverse transcriptase and human DNA polymerases α, β, and γ. Antivir Chem Chemother 1995;6 (4):217-21. (4.3.18)

3　Lee WA, He G-X, Eisenberg E, Cihlar T, Swaminathan S, Mulato A, et al. Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49 (5):1898-906. (4.3.53)

4　Birkus G, Kutty N, He GX, Mulato A, Lee W, McDermott M, et al. Activation of 9-[(R)-2-[[(S)-[[(S)-1-(Isopropoxycarbonyl)ethyl]amino] phenoxyphosphinyl]-methoxy]propyl]adenine (GS-7340) and other tenofovir phosphonoamidate prodrugs by human proteases. Mol Pharmacol 2008; 74 (1):92-100. (4.3.9)

5　Birkus G, Kutty N, He G-X, Mulato A, Lee W, McDermott M, et al. Activation of GS-7340 and Other Tenofovir Phosphonoamidate Prodrugs by Human Proteases. Antiviral Res 2007; 74:A57. (4.3.10)

6　Murakami E, Wang T, Park Y, Hao J, Lepist EI, Babusis D, et al. Implications of Efficient Hepatic Delivery by Tenofovir Alafenamide (GS-7340) for Hepatitis B Virus Therapy. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59 (6):3563-9. (4.3.75)

7　Babusis D, Phan TK, Lee WA, Watkins WJ, Ray AS. Mechanism for Effective Lymphoid Cell and Tissue Loading Following Oral Administration of Nucleotide Prodrug GS-7340. Mol Pharm 2013; 10 (2):459-66. (4.3.3)

8　Lotus Moon-McDermott. A Single Dose Oral Bioavailability Study of Tenofovir DF in Rhesus Monkeys. CO, US: Gilead Sciences Inc.; 2001 Mar. Study NO. P2000031 (4.3.57)

9　Birkus G, Wang R, Liu XH, Kutty N, MacArthur H, Cihlar T, et al. Cathepsin A is the major hydrolase catalyzing the intracellular hydrolysis of the antiretroviral nucleotide phosphonoamidate prodrugs GS-7340 and GS-9131. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51 (2):543-50. (4.3.11)

10　Bjornsson TD, Callaghan JT, Einolf HJ, Fischer V, Gan L, Grimm S, et al. The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective. Drug Metab Dispos 2003; 31 (7):815-32. (4.3.12)

11　Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KLR, Chu X, et al. Membrane transporters in drug development. Nat Rev Drug Discov 2010; 9 (3):215-36. (4.3.36)

12　Guidance for Industry. Drug interaction studies - study design, data analysis, and implications for dosing and labeling, Draft Guidance. US department of health and human services 2006:1-55. (4.3.44)

13　European Medicines Agency (EMEA). Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions, Draft [EMA/CHMP/EWP/125211/2010]. April, 2010. (4.3.33)

14　Obach RS, Walsky RL, Venkatakrishnan K, Gaman EA, Houston JB, Tremaine LM. The utility of in vitro cytochrome P450 inhibition data in the prediction of drug-drug interactions. J Pharmacol Exp Ther 2006; 316 (1):336-48. (4.3.77)

15　Zhu HJ, Patrick KS, Yuan HJ, Wang JS, Donovan JL, DeVane CL, et al. Two CES1 gene mutations lead to dysfunctional carboxylesterase 1 activity in man: clinical significance and molecular basis. American journal of human genetics 2008; 82 (6):1241-8. (4.3.94)

16　Tarkiainen EK, Backman JT, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Schwab M, Niemi M. Carboxylesterase 1 polymorphism impairs oseltamivir bioactivation in humans. Clin Pharmacol Ther 2012; 92 (1):68-71. (4.3.104)

17　Imaoka T, Kusuhara H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, Sugiyama Y. Functional involvement of multidrug resistance associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the anti viral drugs, adefovir and tenofovir. Mol Pharmacol 2007; 71 (2):619-27. (4.3.42)

18　Cihlar T, LaFlamme G, Fisher R, Carey AC, Vela JE, Mackman R and Ray AS. Novel Nucleotide Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase Inhibitor GS-9148 with a Low Nephrotoxic Potential: Characterization of Renal Transport and Accumulation. Amticomb Agents Chemother 2009 53(1): 150-6. (4.3.22)

19　Cihlar T, Ho ES, Lin DC, Mulato AS. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2001;20; 20 (4-7):641-8. (4.3.21)

20　Cihlar T, Ray AS, Laflamme G, Vela JE, Tong L, Fuller MD, Roy A, Rhodes GR. Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. Antivir Ther. 2007; 12(2):267-72. (4.3.23)

21　Marta-Hamilton. Single Dose IV Pharmacokinetics of Tenofovir at Two Doses in Sprague-Dawley Rats. CO, US: Gilead Sciences Inc.; 2001 Apr. Study NO. R2000075 (4.3.62)

22　Marta-Hamilton. Single Dose Oral Bioavailability of Tenofovir DF in Beagle Dogs. CO, US: Gilead Sciences Inc.; 2001 Apr. Study NO. D2000076 (4.3.63)

23　Steven J Weber. Tissue Distribution of [^{14}C]GS-4331 in Beagle Dogs Following Oral Administration. KS, US: Oread BioSafety Inc.; 1997 May. Study NO. 97-DDM-4331-001 (4.3.99)

24　John Flaherty, A Phase 1-2, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of the Safety, Tolerance, Pharmacokinetics, and Antiviral Activity of 9-[(R)-2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMPA) in HIV-Infected Patients. CA, US: Gilead Sciences Inc.; 2000 Nov. Study NO. GS-96-701 (4.3.28)

ベムリディ錠 25 mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.5　薬物動態試験概要表

ギリアド・サイエンシズ株式会社

(0000)

目次

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表 3
2.6.5.2　分析法 13
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：*In vitro* 33
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与 34
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与 46
2.6.5.5　薬物動態試験：分布 61
2.6.5.6　薬物動態試験：タンパク結合率 92
2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 94
2.6.5.8　薬物動態試験：血球移行率 100
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*in vitro* 101
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*in vivo* 108
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路 129
2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 130
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄 131
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中 139
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験 141
2.6.5.16　薬物動態試験：その他 183

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表

Test Article: TAF, TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Analytical Methods and Validation (TAF)						
Mouse plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Madison, WI, USA	BA-120-2004	4.2.2.1.1
Rat plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Madison, WI, USA	BA-120-2003	4.2.2.1.2
Rabbit plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Madison, WI, USA	BA-120-2005	4.2.2.1.3
Dog, monkey plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	TOX-120-002	4.2.3.2.6
Monkey plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	010521/PHZ	4.2.2.1.4
Analytical Methods and Validation (TFV)						
Mouse plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Lawrence, KS, USA	P4331-00008	4.2.2.1.5
Rat, monkey plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Lawrence, KS, USA	P1278-00001	4.2.2.1.6
Rat, mouse plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada / [redacted], Montreal, QC, Canada	P1278-00028	4.2.2.1.7
Rat plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	R-BA Tox-120-001	4.2.2.1.8

2.6.5.1　薬物動態試験　　一覧表（続き）

Test Article: TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Rat plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	001092/NGE	4.2.2.1.9
Rabbit plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Lawrence, KS, USA	P4331-035-3	4.2.2.1.10
Dog plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Lawrence, KS, USA	P1278-00017	4.2.2.1.11
Dog plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	P4331-0037	4.2.2.1.12
Monkey plasma	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	P1278-00029	4.2.2.1.13
Rat milk	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	P1278-00034	4.2.2.1.14
Dog PBMC	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	993680/MYS	4.2.2.1.15
Dog, monkey PBMC	No	NA	*In Vitro*	[redacted], Montreal, QC, Canada	AA01240-RQZ	4.2.2.1.16

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Absorption After a Single Dose						
Permeability across Caco-2 cell monolayers	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2037	4.2.2.2.1
Absorption	Yes	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2014	4.2.2.2.2
Absorption	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2016	4.2.2.2.3
Absorption	Yes	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2015	4.2.2.2.4
Absorption	No	Rat	Oral	Gilead Sciences, Inc., Boulder, CO, USA (In-life phase); Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA (Analysis)	R990130	4.2.2.2.5
Formulation comparison	No	Rat	Oral	Gilead Sciences, Inc., Boulder, CO, USA	R2000065	4.2.2.2.6
Absorption, Bioavailability	No	Dog	IV, Oral	[redacted], Menlo Park, CA, USA	99-DDM-1278-001-PK	4.2.2.2.7
Absorption	No	Dog	Oral	[redacted], Mattawan, MI, USA	AD-120-2034	4.2.2.2.8
Absorption	No	Monkey	Oral	[redacted], Sparks, NV, USA	P2000087	4.2.2.2.9

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Absorption After Repeated Dose						
Toxicokinetics	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	TX-120-2006	4.2.3.2.1
Toxicokinetics	Yes	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	TX-120-2007	4.2.3.2.2
Toxicokinetics	Yes	Rat	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	R990182-PK	4.2.3.2.3
Toxicokinetics	Yes	Rat	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TOX-120-001	4.2.3.2.4
Repeated dose pharmacokinetics	No	Dog	Oral	[redacted], Mattawan, MI, USA	AD-120-2033	4.2.2.2.10
Toxicokinetics	Yes	Dog	Oral	[redacted], Senneville, QC Canada	D990175-PK	4.2.3.2.5
Toxicokinetics	Yes	Dog	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TOX-120-002	4.2.3.2.6
Toxicokinetics	Yes	Monkey	Oral	[redacted], Sparks, NV, USA	P2000114-PK	4.2.3.2.7

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Distribution						
Tissue distribution of radioactivity	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2011	4.2.2.3.1
Tissue distribution of radioactivity	No	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2020	4.2.2.3.2
Tissue distribution of radioactivity	No	Dog	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2009	4.2.2.3.3
Single dose tissue distribution	Yes	Dog	Oral	[redacted], Lawrence, KA, USA	D990173-BP	4.2.2.3.4
Plasma protein binding in vitro	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2026	4.2.2.3.5
Plasma protein binding in vitro of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	P0504-00039.1	4.2.2.3.6
Placental transfer	Yes	Rat	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TX-120-2001	4.2.3.5.2.1
Placental transfer	Yes	Rat	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TX-120-2002	4.2.3.5.2.2
Placental transfer	Yes	Rabbit	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TX-120-2004	4.2.3.5.2.4
Placental transfer	Yes	Rabbit	Oral	[redacted], Senneville, QC, Canada	TX-120-2005	4.2.3.5.2.5
Placental transfer	No	Monkey	Subcutaneous	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	96-DDM-1278-005	4.2.2.3.7

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Single dose tissue distribution of TFV	No	Lactating Monkey	Subcutaneous	[redacted], Davis, CA, USA	P2000116	4.2.2.3.8
Blood to plasma ratio	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2011	4.2.2.3.1
Blood to plasma ratio	No	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2020	4.2.2.3.2
Blood to plasma ratio	No	Dog	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2009	4.2.2.3.3
Metabolism						
In vitro metabolism, plasma stability	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2025	4.2.2.4.1
In vitro metabolism, intestinal S9 stability	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2024	4.2.2.4.2
In vitro metabolism, hepatic S9 stability	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2023	4.2.2.4.3
Effect of pharmacoenhancer on intestinal stability	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2027	4.2.2.4.4
In vitro cytochrome P450 phenotyping	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2004	4.2.2.4.5
Metabolism in vitro	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2017	4.2.2.4.6
Metabolism in vitro of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	96-DDM-1278-003	4.2.2.4.7
Metabolite identification, mouse	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2012	4.2.2.4.8

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Metabolism						
Metabolite identification, rat	No	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2021	4.2.2.4.9
Metabolite identification, dog	No	Dog	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2008	4.2.2.4.10
Activation of TFV in monkey	No	Monkey	Subcutaneous	Gilead Sciences, Inc., Boulder, CO, USA	P2001025	4.2.1.1.7
Excretion						
Excretion in mouse	No	Mouse	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2011	4.2.2.3.1
Excretion in rat	No	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2020	4.2.2.3.2
Absorption and excretion of [^{14}C]-TFV	No	Rat	IV	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	96-DDM-1278-001	4.2.2.5.1
Absorption and excretion	No	Dog	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2007	4.2.2.5.2
Excretion of [^{14}C]-TFV	No	Dog	IV	[redacted], Worcester, MA, USA	96-DDM-1278-002	4.2.2.5.3
Bile excretion of [^{14}C]-TAF in rat	No	Rat	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2020	4.2.2.3.2
Bile excretion of [^{14}C]-TAF in dog	No	Dog	Oral	[redacted], Madison, WI, USA	AD-120-2007	4.2.2.5.2
Bile excretion of [^{14}C]-TFV in dog	No	Dog	IV	[redacted], Worcester, MA, USA	96-DDM-1278-002	4.2.2.5.3

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Pharmacokinetic Drug Interactions						
In vitro cytochrome P450 inhibition	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Macclesfield, UK	AD-120-2003	4.2.2.6.1
In vitro cytochrome P450 mechanism-based inhibition	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Macclesfield, UK	AD-120-2040	4.2.2.6.2
In vitro cytochrome P450 inhibition of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	V990172-104	4.2.2.6.3
Human UGT1A1 inhibition potential	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Macclesfield, UK	AD-120-2006	4.2.2.6.4
In vitro cytochrome P450 induction	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2005	4.2.2.6.5
Human hepatocyte induction potential	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Woburn, MA, USA	AD-120-2032	4.2.2.6.6
Effect of pharmacoenhancer on intestinal stability	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2027	4.2.2.4.4
Effect of cathepsin A, carboxylesterase 1, CYP3A4 on primary human hepatocytes	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2031	4.2.2.6.7
Permeability in P-gp and BCRP overexpressing cells	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2018	4.2.2.6.8

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Permeability across Caco-2 cell monolayers	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2013	4.2.2.6.9
Effect of CsA pretreatment on pharmacokinetics	No	Dog	IV, Oral	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2035	4.2.2.6.10
Effect on uptake in human OATP1B1 and OATP1B3	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2022	4.2.2.6.11
Effect of an OATP inhibitor on uptake of TAF into primary human hepatocytes	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2042	4.2.2.6.12
Inhibition of human OATP1B1, OATP1B3, P-gp, and BCRP	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-120-2019	4.2.2.6.13
Permeability of TFV in P-gp overexpressing cells	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-236-2004	4.2.2.6.14
Permeability of TFV in BCRP overexpressing cells	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-236-2005	4.2.2.6.15
Assessment of interaction potential between TFV and human P-gp	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-104-2002	4.2.2.6.16
Human P-gp and BCRP inhibition potential of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-236-2003	4.2.2.6.17
Inhibition of human OATP1B1 and OATP1B3 by TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-236-2006	4.2.2.6.18
Inhibition of human OAT1, OAT3, OCT1, OCT2. MATE1 and BSEP	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Budaörs, Hungary	AD-120-2036	4.2.2.6.19

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate), TFV, TDF

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location
Effect of TFV on human OAT3, OCT1, and OCT2	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Research Triangle Park, NC, USA	PC-103-2001	4.2.2.6.20
Drug interaction with human OAT1 transport of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	PC-104-2010	4.2.2.6.21
Drug interaction with human OAT3 transport of TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	PC-104-2011	4.2.2.6.22
Interaction of emtricitabine and tenofovir with human OCT2	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Budaörs, Hungary	AD-236-2011	4.2.2.6.23
Inhibition of human OCT1 and BSEP transporters by TFV	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Budaörs, Hungary	AD-236-2008	4.2.2.6.24
Assessment of interaction potential between TFV and human MRP1	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	PC-104-2014	4.2.2.6.25
Transport of TFV by MRP2 and MRP4	No	*In Vitro*	*In Vitro*	Gilead Sciences, Inc., Foster City, CA, USA	AD-104-2001	4.2.2.6.26
Effects of TFV on human OCT2 and MATE1	No	*In Vitro*	*In Vitro*	[redacted], Budaörs, Hungary	AD-104-2012	4.2.2.6.27

Other Pharmacokinetic Studies: None

BCRP = breast cancer resistance protein; BSEP = bile salt export protein; [redacted] = [redacted]; [redacted] = [redacted]; CsA = cyclosporin A; CYP = cytochrome P450; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; MRP = multidrug resistance-associated protein; MDR1 = P-glycoprotein (P-gp, ABCB1); OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; OLI = [redacted].PBMC = peripheral blood mononuclear cell; P-gp = human P-glycoprotein; TAF = tenofovir alafenamide; TDF = tenofovir disoproxil fumarate; TFV = tenofovir; UGT = uridine diphosphate glucuronosyl transferase

a　An entry of "Yes" indicates that the study includes a Good Laboratory Practice (GLP) compliance statement.

2.6.5.2　分析法

マウス血漿中 TAF 及び TFV 濃度定量法

Report Number: BA-120-2004　　Location: 4.2.2.1.1　　Test Article: TAF, TFV

Report Title: Validation of a Method for the Determination of GS-7340 and R-PMPA in Mouse Plasma by HPLC with MS/MS Detection

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Mouse	Plasma	TAF	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic)	Calibration range	10 - 5000	≥0.9960	NA	NA
				Intra-day	10	NA	1.5	101.0
					30, 500, 3750	NA	≤8.6	97.3 to 114.3
				Inter-day	30, 500, 3750	NA	≤9.8	101.1 to 105.3
				Long-term stability	30, 3750, 20000*	148 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	3 cycles		
		TFV	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	10 - 5000	≥0.9946	NA	NA
				Intra-day	10	NA	2.7	101.0
					30, 500, 3750	NA	≤4.6	96.3 to 111.2
				Inter-day	30, 500, 3750	NA	≤5.8	102.0 to 108.3
				Long-term stability	30, 3750, 20000*	148 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	3 cycles		

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

ラット血漿中 TAF 及び TFV 濃度定量法

Report Number: BA-120-2003　　Location: 4.2.2.1.2　　Test Article: TAF, TFV

Report Title: Abbreviated Validation of a Method for the Determination of GS-7340 and R-PMPA in Rat Plasma by HPLC with MS/MS Detection

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Rat	Plasma	TAF	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic)	Calibration range	10 - 5000	0.9991	NA	NA
				Intra-day	10	NA	NA	99.4
					30, 500, 3750	NA	≤4.7	109.6 to 114.0
				Long-term stability	30, 3750, 20000*	215 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	3 cycles		
		TFV	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	10 - 5000	0.9988	NA	NA
				Intra-day	10	NA	NA	105.0
					30, 500, 3750	NA	≤3.2	111.2 to 114.0
				Long-term stability	30, 3750, 20000*	215 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	3 cycles		

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

ウサギ血漿中 TAF 及び TFV 定量法

Report Number: BA-120-2005　　Location: 4.2.2.1.3　　Test Article: TAF, TFV

Report Title: Abbreviated Validation of a Method for the Determination of GS-7340 and R-PMPA in Rabbit Plasma by HPLC with MS/MS Detection

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Rabbit	Plasma	TAF	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	1 - 500	0.9984	NA	NA
				Intra-day	1	NA	NA	99.2
					3, 50, 375	NA	≤12.4	93.6 to 104.7
				Long-term stability	3, 375, 2000*	191 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	3, 375	3 cycles		
		TFV	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	10 - 5000	0.9998	NA	NA
				Intra-day	10	NA	NA	99.3
					30, 500, 3750	NA	≤5.0	96.6 to 99.5
				Long-term stability	30, 3750, 20000*	191 days at -60°C to -80°C		
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	3 cycles		

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ及びサル血漿中 TAF 及び TFV 定量法

Report Number: TOX-120-002　　Location: 4.2.3.2.6　　Test Article: TAF, TFV

Report Title: A 9 MONTH ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF GS-7340-02 IN THE BEAGLE DOG WITH A 3 MONTH RECOVERY PERIOD FOR SELECTED ANIMALS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Dog	Plasma	TAF	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	0.999-199.864	NA	NA	NA
				Intra-day	0.999	NA	4.5	100.2
					2.985, 19.903, 159.221	NA	≤4.6	110.0 to113.3
				Freeze-Thaw stability	2.985, 159.221	4 cycles		
Monkey				Calibration range	1.00-199.86	≥0.9954	NA	NA
				Intra-day	1.00	NA	14.4	115.3
					3.03, 60.66, 161.75	NA	≤7.0	86.2 to 102.2
				Inter-day	1.00	NA	12.7	108.1
					3.03, 60.66, 161.75	NA	≤6.5	103.5 to108.7
				Long-term stability	3.03, 161.75	16 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	3.03, 161.75	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ及びサル血漿中 TFV 定量法（続き）

Report Number: TOX-120-002　　Test Article: TAF, TFV

Report Title: A 9 MONTH ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF GS-7340-02 IN THE BEAGLE DOG WITH A 3 MONTH RECOVERY PERIOD FOR SELECTED ANIMALS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Dog	Plasma	TFV	Solid phase extraction LC/MS/MS Weight: 1/X (Quadratic)	Calibration range	1.00-499.02	NA	NA	NA
				Intra-day	1.00	NA	10.7	84.0
					3.00, 99.99, 399.96	NA	≤8.0	99.5 to 108.0
				Long-term stability	3.00, 400.00	176 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	3.00, 399.96	4 cycles		
Monkey				Calibration range	1.00-498.14	≥0.9954	NA	NA
				Intra-day	1.00	NA	6.6	117.3
					2.99, 99.82, 399.26	NA	≤5.5	104.8 to 112.5
				Inter-day	1.00	NA	11.9	112.9
					2.99, 99.82, 399.26	NA	≤7.5	102.9 to 103.6
				Long-term stability	3.00, 400.00	788 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	2.99, 399.26	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

サル血漿中 TAF 定量法

Report Number: 010521/PHZ　　Location: 4.2.2.1.4　　Test Article: TAF

Report Title: THE DETERMINATION OF GS-7340 IN RHESUS MONKEY PLASMA (EDTA) USING A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Monkey	Plasma	TAF	Protein precipitation LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	1.00 – 199.86	≥0.9967	NA	NA
				Intra-day	1.00	NA	14.4	115.3
					3.03, 60.66, 161.75	NA	≤7.0	86.2 to 102.2
				Inter-day	1.00	NA	12.7	108.1
					3.03, 60.66, 161.75	NA	≤6.5	103.5 to 108.7
				Long-term stability	3.03, 161.75	16 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	3.03, 161.75	3 cycles at -22°C		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

マウス血漿中 TFV 定量法

Report Number: P4331-00008　　Location: 4.2.2.1.5　　Test Article: TFV

Report: Cross-Validation of an HPLC Method for the Quantitation of GS-1278 (PMPA) in Mouse Plasma and Determination of PMPA in Mouse Plasma Samples

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%deviation)
Mouse	Plasma	TFV	Protein precipitation LC/FR Weight: 1/X (Linear)	Calibration range	25 – 1000	≥0.99982	NA	NA
				Intra-day	25	NA	3.85	5.33
				Inter-day	110, 400, 800, 5000*	NA	≤2.59	-2.00 to 5.61

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

ラット血漿中 TFV 定量法

Report Number: P1278-00001　　Location: 4.2.2.1.6　　Test Article: TFV

Report Title: VALIDATION OF AN HPLC ASSAY FOR THE QUANTITATION OF GS-1278 (PMPA) IN RAT PLASMA AND CROSS-VALIDATION IN CYNOMOLGUS MONKEY PLASMA

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%deviation)
Rat	Plasma	TFV	Protein precipitation LC/FR Weight: 1/X (Linear)	Calibration range	25 – 1000	≥0.99680	NA	NA
				Intra-day	25	NA	3.6	-2.7
					113, 410, 820, 5130*	NA	≤11.0	-3.0 to 4.3
				Inter-day	25	NA	NA	NA
					113, 410, 820, 5130*	NA	≤7.5	-0.5 to 1.9
				Freeze-Thaw stability	113, 410, 820, 5130*	3 cycles		

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

マウス及びラット血漿中 TFV 濃度定量法

Report Number: P1278-00028　　Location: 4.2.2.1.7　　Test Article: TFV

Report Title: Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Mass Spectrometric Method for the Determination of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Sodium Citrate) Cross-validation of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Heparin)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Rat	Plasma	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quandratic) Sodium citrate	Calibration range	2.99 – 199.63	≥0.9947	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	11.4	99.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤8.8	86.5 to 93.3
				Inter-day	2.99	NA	9.7	107.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤9.0	99.1 to 104.4
				Long-term stability	8.98, 149.72	114 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	8.98, 149.72	4 cycles		
			Heparin	Intra-day	2.99	NA	6.9	117.8
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤4.7	101.3 to 109.3
				Long-term stability	8.98, 149.72	93 days at -80°C		
					8.98, 150.92	106 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	8.98, 149.72	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

マウス及びラット血漿中 TFV 濃度定量法（続き）

Report Number: P1278-00028　　Test Article: TFV

Report Title: Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Mass Spectrometric Method for the Determination of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Sodium Citrate) Cross-validation of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Heparin)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Mouse	Plasma	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic) Heparin	Calibration range	2.99 – 199.61	NA	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	12.6	108.7
					9.00, 79.99, 149.99	NA	≤7.7	98.5 to 110.4
				Long-term stability	9.00, 149.99	7 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	9.00, 149.99	4 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

ラット血漿中 TFV 濃度定量法

Report Number: R-BA Tox-120-001　　Location: 4.2.2.1.8　　Test Article: TFV

Report Title: Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Mass Spectrometric Method for the Determination of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Sodium Citrate)

Partial validation of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (EDTA)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Rat	Plasma	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic) Sodium citrate	Calibration range	2.99 – 199.63	≥0.9947	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	11.4	99.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤8.8	86.5 to 93.3
				Inter-day	2.99	NA	9.7	107.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤9.0	99.1 to 104.4
				Long-term stability	8.98, 149.72	114 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	8.98, 149.72	4 cycles		
			EDTA	Intra-day	2.99	NA	4.1	105.6
					9.00, 79.99, 149.99	NA	≤9.6	99.9 to 104.0
				Freeze-Thaw stability	9.00, 149.99	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

ラット血漿中 TFV 濃度定量法

Report Number: 001092/NGE　　Location: 4.2.2.1.9　　Test Article: TFV

Report Title: Validation of a High Performance Liquid Chromatographic Mass Spectrometric Method for the Determination of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Sodium Citrate)

Cross-validation of GS-1278 (R-PAMP) in Rat Plasma (Heparin)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Rat	Plasma	TFV	Solid phase extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic) Sodium citrate	Calibration range	2.99 – 199.63	≥0.9947	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	11.4	99.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤8.8	86.5 to 93.3
				Inter-day	2.99	NA	9.7	107.6
					8.98, 79.85, 149.72	NA	≤9.0	99.1 to 104.4
				Long-term stability	8.98, 149.72	50 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	8.98, 149.72	4 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

ウサギ血漿中 TFV 定量法

Report Number: P4331-035-3　　Location: 4.2.2.1.10　　Test Article: TFV

Report Title: CROSS-VALIDATION OF AN HPLC METHOD FOR THE QUANTITATION OF GS-1278 (PMPA) IN RABBIT PLASMA AND DETERMINATION OF PMPA IN RABBIT PLASMA SAMPLES

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (µg/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%deviation)
Rabbit	Plasma	TFV	Protein precipitation LC/FR Weight: 1/X (Linear)	Calibration range	0.025 – 1.000	≥0.99891	NA	NA
				Intra-day	0.025	NA	4.00	-0.67
					0.110, 0.400, 0.800, 5.000*	NA	NA	NA
				Inter-day	0.025	NA	NA	NA
					0.110, 0.400, 0.800, 5.000*	NA	≤3.74	2.27 to 5.07

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ血漿中 TFV 定量法

Report Number: P1278-00017　　Location: 4.2.2.1.11　　Test Article: TFV

Report Title: CROSS-VALIDATION OF AN HPLC ASSAY FOR THE QUANTITATION OF GS-1278 (PMPA) IN DOG PLASMA

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (µg/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%deviation)
Dog	Plasma	TFV	Protein precipitation LC/FR Weight: 1/X (Linear)	Calibration range	0.025 – 1.000	≥0.99896	NA	NA
				Intra-day	0.025	NA	6.9	-7.7
					0.110, 0.400, 0.800, 5.000*	NA	≤9.4	-4.3 to 6.2

NA: not applicable
*: This sample was measured after dilution.

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ血漿中 TFV 定量法

Report Number: P4331-0037　　Location: 4.2.2.1.12　　Test Article: TFV

Report Title: MINI-VALIDATION OF A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF GS-1278 (R-PMPA) IN DOG PLASMA (EDTA)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Dog	Plasma	TFV	Solid phase extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic) EDTA	Calibration range	2.99 - 199.26	0.9807	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	13.2	117.3
					8.98, 80.85, 149.72	NA	≤8.7	95.6 to 105.6
				Freeze-Thaw stability	8.98, 149.72	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

サル血漿中 TFV 定量法

Report Number: P1278-00029　　Location: 4.2.2.1.13　　Test Article: TFV

Report Title: VALIDATION OF A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF GS-1278 (R-PMPA) IN MONKEY PLASMA (EDTA)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Monkey	Plasma	TFV	Solid phase extraction LC/MS/MS Weight: 1/X (Quadratic) EDTA	Calibration range	1.00 – 498.14	≥0.9954	NA	NA
				Intra-day	1.00	NA	6.6	117.3
					2.99, 99.82, 399.26	NA	≤5.5	104.8 to 112.5
				Inter-day	1.00	NA	11.9	112.9
					2.99, 99.82, 399.26	NA	≤7.5	102.9 to 103.6
				Long-term stability	2.99, 399.26	30 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	2.99, 399.26	3 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　分析法

ラット乳汁中 TFV 定量法

Report Number: P1278-00034　　Location: 4.2.2.1.14　　Test Article: TFV

Report Title: VALIDATION OF A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF GS-1278 (R-PMPA) IN RAT MILK

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Rat	Milk	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	9.96 – 996.28	≥0.9976	NA	NA
				Intra-day	9.96	NA	4.3	103.3
					29.94, 199.63, 798.53	NA	≤8.0	101.5 to 113.3
				Inter-day	9.96	NA	7.6	100.6
					29.94, 199.63, 798.53	NA	≤10.3	101.2 to 103.2
				Long-term stability	NA	In process		
				Freeze-Thaw stability	29.94, 798.53	4 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ PBMC 中 TFV 定量法

Report Number: 993680/MYS　　Location: 4.2.2.1.15　　Test Article: TFV

Report Title: THE DETERMINATION OF GS-1278 (R-PMPA) IN DOG PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS (PBMC) USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRIC DETECTION

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Dog	PBMC	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Quadratic) Sodium citrate	Calibration range	2.00 – 199.63	≥0.9995	NA	NA
				Intra-day	2.00	NA	4.3	108.6
					5.99, 79.85, 149.72	NA	≤4.1	105.6 to 109.6
				Inter-day	2.00	NA	6.3	109.5
					5.99, 79.85, 149.72	NA	≤4.6	102.2 to 106.1
				Long-term stability	5.99, 149.72	16 days at -22°C		
				Freeze-Thaw stability	5.99, 149.72	4 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ及びサル PBMC 中 TFV 定量法

Report Number: AA01240-RQZ　　Location: 4.2.2.1.16　　Test Article: TFV

Report Title: A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF TOTAL GS-1278 (R-PMPA) IN MONKEY PBMC

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%)
Dog	PBMC in PBS	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	2.99-598.82	≥0.9961	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	6.2	103.0
					9.00, 239.98, 449.96	NA	≤5.1	98.3 to 99.1
				Inter-day	2.99	NA	8.1	107.7
					9.00, 239.98, 449.96	NA	≤8.5	98.7 to 100.9
				Long-term stability	9.00, 449.96	18 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	9.00, 449.96	4 cycles		
	PBMC in 60%Methanol			Calibration range	3.00-599.99	≥0.9916	NA	NA
				Intra-day	3.00	NA	13.0	97.3
					9.00, 90.0, 449.98	NA	≤4.0	99.3 to 105.5
				Long-term stability	9.00, 449.98	25 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	9.00, 449.98	4 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.2　　分析法（続き）

イヌ及びサル PBMC 中 TFV 定量法（続き）

Report Number: AA01240-RQZ　　Test Article: TFV

Report Title: A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF TOTAL GS-1278 (R-PMPA) IN MONKEY PBMC

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R^2	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Monkey	PBMC in PBS	TFV	Solid extraction LC/MS/MS Weight: $1/X^2$ (Linear)	Calibration range	2.99-598.82	≥0.9916	NA	NA
				Intra-day	2.99	NA	6.6	97.0
					9.00, 89.99 , 449.96	NA	≤4.4	103.0 to 105.5
				Long-term stability	9.00, 449.96	32 days at -20°C		
				Freeze-Thaw stability	9.00, 449.96	5 cycles		

NA: not applicable

2.6.5.3　A 薬物動態試験：吸収：*In vitro*

膜透過性（Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験での評価）

Report Number: AD-120-2037　　Location: 4.2.2.2.1　　Test Article: TAF

Report Title: Concentration Dependent Permeability of Tenofovir Alafenamide through Caco-2 Cell Monolayers

Bidirectional Permeability of TAF Through Caco-2 Cells (n=4)

Inhibitor	Direction	Target Concentration (μmol/L)	Initial Conc. (μmol/L)	Recovery (%)	P_{app} (10^{-6} cm/s)	Efflux Ratio
					Average	
–	Cell-Free	10	11.3	106	42.9	20.2
	Forward		10.9	42.7	0.34	
	Reverse		10.0	85.3	6.98	
–	Cell-Free	100	104	112	53.2	13.6
	Forward		92.0	40.4	0.63	
	Reverse		98.1	85.2	8.47	
–	Cell-Free	1000	969	109	46.1	6.28
	Forward		933	77.4	1.08	
	Reverse		1038	88.8	5.86	
CsA	Cell-Free	10	9.85	113	43.5	1.00*
	Forward		10.4	42.2*	1.51	
	Reverse		10.8	70.5*	1.34	

Caco-2 = human colonic adenocarcinoma cell line; TAF = tenofovir alafenamide; P_{app} = apparent permeability; CsA = cyclosporine A
*: n=3

2.6.5.3　　B 薬物動態試験：吸収：単回投与

マウスでの単回投与

Report Number: AD-120-2014　　Location: 4.2.2.2.2　　Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate)

Report Title: Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of GS-7340-02 and GS-7340-03 After a Single Oral Dose to Mice

Species	CD-1 mice											
Feeding Condition	Not fasted											
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in reverse osmosis water											
Method of Administration	Oral gavage											
Sampling Points	Pre-dose, 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 h											
Sample	Plasma											
Assay	LC/MS/MS											
Test Article	TAF (monofumarate)						TAF (hemifumarate)					
Sex (M/F) / No. of Animals	M/36						M/36					
Dose (mg/kg)	10		30		100		10		30		100	
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
PK Parameters												
t_{max} (h)	0.08	0.50	NA	0.25	0.08	0.75	NA	0.50	4.00	0.50	0.25	1.50
C_{max} (ng/mL)	5.53	106	NA	440	37.1	1827	NA	85.4	10.3	383	34.7	2152
$t_{½}$ (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.16	NA	10.1	NA	NA
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	NA	455	NA	2005	26.0	10643	NA	493	NA	2477	11.3	10866
t_{last} (h)	NA	12.0	NA	24.0	1.50	24.0	NA	12.0	NA	24.0	0.50	24.0
C_{last} (ng/mL)	NA	21.6	NA	35.9	12.8	157	NA	20.5	NA	34.4	24.9	205

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.3　C 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

マウスでの単回投与

Report Number: AD-120-2016　　Location: 4.2.2.2.3　　Test Article: TAF (hemifumarate)

Report Title: Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of GS-7340-03 After a Single Oral Gavage Dose to Male and Female 001178-W (wild type) Mice

Species	Model 001178-W [Wild, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic] mice											
Feeding Condition	Not fasted											
Vehicle / Formulation	0.1:0.1:99.8 (w/w/w) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV/polysorbate (tween) 20/reverse osmosis water											
Method of Administration	Oral gavage											
Sampling Points	Pre-dose, 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 h											
Sample	Plasma											
Assay	LC/MS/MS											
Test Article	TAF (hemifumarate)											
Sex (M/F) / No. of Animals	M/44		F/44		M/44		F/44		M/44		F/44	
Dose (mg/kg)	10				30				100			
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
PK Parameters												
t_{max} (h)	NA	0.25	NA	0.50	0.08	0.25	0.50	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50
C_{max} (ng/mL)	NA	175	NA	100	8.80	615	117	421	648	1988	280	1733
$t_{½}$ (h)	NA	9.78	NA	8.20	NA	9.51	NA	10.9	NA	8.04	NA	11.0
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	NA	735	NA	354	NA	2639	NA	2053	194	10026	104	7131
t_{last} (h)	NA	24.0	NA	12.0	0.25	24.0	NA	24.0	0.50	24.0	0.50	24.0
C_{last} (ng/mL)	NA	13.5	NA	16.5	5.40	31.1	NA	36.3	61.4	99.9	280	113

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.3　D 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

ラットでの単回投与

Report Number: AD-120-2015　Location: 4.2.2.2.4　Test Article: TAF (monofumarate and hemifumarate)

Report Title: Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of GS-7340-02 and GS-7340-03 After a Single Oral Dose to Rats

Species	Sprague-Dawley rats											
Feeding Condition	Not fasted											
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in reverse osmosis water											
Method of Administration	Oral gavage											
Sampling Points	Pre-dose, 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 h											
Sample	Plasma											
Assay	LC/MS/MS											
Test Article	TAF (monofumarate)						TAF (hemifumarate)					
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3						M/3					
Dose (mg/kg)	5		25		100		5		25		100	
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
PK Parameters												
t_{max} (h)	NA	0.67	NA	0.58	NA	0.83	NA	0.58	NA	0.83	NA	0.67
C_{max} (ng/mL)	NA	32.5	NA	199	NA	1240	NA	39.3	NA	364	NA	1670
$t_{½}$(h)	NA	NA	NA	11.2	NA	10.3	NA	NA	NA	7.89	NA	7.85
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	NA	122	NA	1395	NA	7771	NA	88.5	NA	1810	NA	9759
t_{last} (h)	NA	8.00	NA	24.0	NA	24.0	NA	4.67	NA	24.0	NA	24.0
C_{last} (ng/mL)	NA	10.5	NA	25.1	NA	156	NA	12.6	NA	19.4	NA	113

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.3　　E 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

ラットでの単回投与

Report Number: R990130　　Location: 4.2.2.2.5　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Tenofovir (GS-1278) Plasma Pharmacokinetics Following a Single Oral Dose of GS-7340-02 in the Male Albino Rat

Species	Sprague-Dawley rats			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid			
Method of Administration	Oral gavage			
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h			
Sample	Plasma			
Assay	LC/Fluorescence			
Test Article	TAF (monofumarate)			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4			
Dose (mg/kg)	6.25	25	100	400
Analyte	TFV			
PK Parameters				
t_{max} (h)	0.26	0.50	0.50	0.25
C_{max} (ng/mL)	104	1220	3870	15800
$t_{½}$ (h)	NA	14.5	16.2	17.3
$AUC_{0\text{-}last}$(ng•h/mL)	160	3270	12200	48300
t_{last} (h)	4.00	20.0	20.0	24.0
$MRT_{0\text{-}\infty}$ (h)	NA	20.8	18.9	20.6

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.3　　F 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

ラットでの単回投与

Report Number: R2000065　　Location: 4.2.2.2.6　　Test Article: TAF (monofumarate), TDF

Report Title: Comparison of Plasma Pharmacokinetics in Rats of Tenofovir Following Oral Administration of GS-7340-02 or Tenofovir DF as Either a Suspension in CMC or a Solution in Citric Acid

Species	Sprague-Dawley rats			
Feeding Condition	Fasted			
Dose (mg/kg)	400			
Method of Administration	Oral gavage			
Sampling Points	TAF (monofumarate) (CMC suspension and citric acid): Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 32, 48, 55 h TDF (CMC suspension): Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 32, 48, 55 h TDF (citric acid): Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48 h			
Sample	Plasma			
Assay	LC/MS/MS			
Test Article	TAF (monofumarate)		TDF	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3			
Vehicle / Formulation	CMC suspension	50 mmol/L citric acid	CMC suspension	50 mmol/L citric acid
Analyte	TFV			
PK Parameters				
t_{max} (h)	0.50	0.25	0.25	0.50
C_{max} (ng/mL)	14229	8418	8101	2699
$t_{½}$ (h)	11.3	11.4	7.21	8.31
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	36288	33067	15774	11403
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	36795	33638	15848	11581
t_{last} (h)	55.0	55.0	55.0	48.0

CMC = carboxymethylcellulose; F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TDF = tenofovir disoproxil fumarate; TFV = tenofovir

2.6.5.3　G 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

イヌでの単回投与

Report Number: 99-DDM-1278-001-PK　Location: 4.2.2.2.7　Test Article: TAF, TAF (monofumarate) and its Diastereoisomers Mixture

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Bioavailability Study M059-98 of GS-7340 in Dogs

Species	Beagle dogs		
Feeding Condition	Fasted		
Vehicle / Formulation	Sterile Saline		
Method of Administration	IV bolus		
Sampling Points	Plasma: Pre-dose, 2.5, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h, PBMC: Pre-dose, 2, 8,24 h		
Assay	LC/Fluorescence		
Test Article	TAF (monofumarate)		
Sex (M/F) / No. of Animals	M/5		
Dose (mg/kg)	6.20		
Sample	Plasma		PBMC
Analyte	TAF	TFV	TFV
PK Parameters			
t_{max} (h)	0.00*	0.04	7.6
C_{max} (µg/mL)	8.88*	2.09	26.2
$t_{½}$ (h)	0.13	13.7	39.1
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	1.46	2.01	448**
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	1.52	2.69	NC
V_z (L/kg)	0.82	NA	NA
CL (L/h/kg)	4.48	NA	NA

F = female; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
*　Extrapolated to time zero
**　t = 24h

2.6.5.3　　G 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

イヌでの単回投与（続き）

Report Number: 99-DDM-1278-001-PK　　Test Article: TAF, TAF (monofumarate) and its Diastereoisomers Mixture

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Bioavailability Study M059-98 of GS-7340 in Dogs

Species	Beagle dogs											
Feeding Condition	Fasted											
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid											
Method of Administration	Oral gavage											
Sampling Points	Pre-dose, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h											
Assay	LC/Fluorescence											
Test Article	TAF			TAF (monofumarate)								
Sex (M/F) / No. of Animals	M/5											
Dose (mg/kg)	18.0			20.0		4.80				5.00		
Sample	Plasma		PBMC	Plasma		PBMC	Plasma		PBMC	Plasma		PBMC
Analyte	TAF	TFV	TFV	TAF	TFV	TFV	TAF	TFV	TFV	TAF	TFV	TFV
PK Parameters												
t_{max} (h)	0.17	1.00	10.0	0.18	0.60	4.40	0.14	0.63	10.0	0.32	1.65	NA
C_{max} (µg/mL)	6.39	0.83	46.0	5.82	0.97	59.7	1.12	0.26	8.30	1.01	0.32	NA
$t_{½}$ (h)	0.32	23.1	NA	0.33	22.0	NA	0.24	20.2	NA	0.19	11.7	NA
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	2.79	4.61	706	3.25	5.19	805	0.44	1.26	120	0.48	1.43	NA
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	2.93	7.89	NC	3.73	8.38	NC	0.50	2.08	NC	0.50	1.78	NC
F (%)[a]	53.4	16.9	NA	76.3	20.1	NA	42.4	20.7	NA	41.2	17.1	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

a　Oral bioavailability (F%) for TAF was calculated based on $AUC_{0-\infty}$ value obtained from intravenous administration of TAF (monofumarate) in dogs (Report #99-DDM-1278-001-PK). Oral bioavailability for TFV was calculated based on historical $AUC_{0-\infty}$ value (4.30 µg•h/mL) from intravenous administration of TFV in dogs.

2.6.5.3　　G 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

イヌでの単回投与（続き）

Report Number: 99-DDM-1278-001-PK　　Test Article: TAF, TAF (monofumarate) and its Diastereoisomers Mixture

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Bioavailability Study M059-98 of GS-7340 in Dogs

Species	Beagle dogs		
Feeding Condition	Fed		
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid		
Method of Administration	Oral gavage		
Sampling Points	Pre-dose, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h		
Assay	LC/Fluorescence		
Test Article	TAF (monofumarate)		
Sex (M/F) / No. of Animals	M/5		
Dose (mg/kg)	5.00		
Sample	Plasma		PBMC
Analyte	TAF	TFV	TFV
PK Parameters			
t_{max} (h)	0.30	1.90	NA
C_{max} (µg/mL)	0.24	0.07	NA
$t_{½}$ (h)	0.91	6.14	NA
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	0.16	0.43	NA
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	0.20	0.53	NA
F (%)[a]	16.5	5.08	NA

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; NA = not applicable

a　Oral bioavailability (F%) for TAF was calculated based on $AUC_{0-\infty}$ value obtained from intravenous administration of TAF (monofumarate) in dogs (Report #99-DDM-1278-001-PK). Oral bioavailability for TFV was calculated based on historical $AUC_{0-\infty}$ value (4.30 µg•h/mL) from intravenous administration of TFV in dogs.

2.6.5.3　　G 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

イヌでの単回投与（続き）

Report Number: 99-DDM-1278-001-PK　　Test Article: TAF, TAF (monofumarate) and its Diastereoisomers Mixture

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Bioavailability Study M059-98 of GS-7340 in Dogs

Species	Beagle dogs						
Feeding Condition	Fasted						
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid						
Method of Administration	Oral gavage						
Sampling Points	Pre-dose, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h						
Assay	LC/Fluorescence						
Test Article	GS-7171				GS-7339		
Sex (M/F) / No. of Animals	M/5				M/5		
Dose (mg/kg)	16.0				18.0		
Sample	Plasma			PBMC	Plasma		PBMC
Analyte	TAF	GS-7339	TFV	TFV	GS-7339	TFV	TFV
PK Parameters							
t_{max} (h)	0.17	0.23	0.94	8.00	0.21	1.25	5.60
C_{max} (µg/mL)	2.23	5.62	0.91	32.0	4.77	0.94	19.8
$t_{½}$ (h)	0.58	0.57	20.0	NA	0.49	10.4	NA
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	1.11	4.63	5.31	707	2.77	5.08	199
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	1.63	4.89	8.17	NC	3.20	6.14	NC
F (%)[a]	NA	NA	19.7	NA	NA	13.1	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
Note: GS-7171 contains 1:1 mixture of diastereoisomers A (TAF) and B (GS-7339).
a　Oral bioavailability for TFV was calculated based on historical $AUC_{0-\infty}$ value (4.30 µg•h/mL) from intravenous administration of TFV in dogs

2.6.5.3　　H 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

イヌでの単回投与

Report Number: AD-120-2034　　Location: 4.2.2.2.8　　Test Article: TAF(monofumarate)

Report Title: Plasma and Liver Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide (TAF) Following Single Oral Administration in Male Beagle Dogs

Species	Beagle dogs				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle / Formulation	0.1% (w/w) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV, 0.1% polysorbate 20 in water				
Method of Administration	Oral gavage[a]				
Sampling Points	Plasma: 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 3.5, 8, 12, 23.5 h, Liver: 1, 4, 24 h				
Dose	10 mg/kg				
Assay	LC/MS/MS				
Test Article	TAF (monofumarate)				
Sex (M/F) / No. of Animals	M/2				
Sample	Plasma		Liver		
Analyte	TAF	TFV	TFV	TFV-MP	TFV-DP
PK Parameters					
t_{max} (h)	0.08	1.00	1.00	4.00	4.00
C_{max} (µg/mL)	3.49	0.64	12.7	12.6	56.4
$t_{½}$ (h)	0.24	>24	15.9	>24	22.3
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	1.38	2.72	86.8	258	1017

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate; TFV-MP = tenofovir monophosphate
a　Animals were pretreated with pentagastrin 20 minutes prior to the dose administration.

2.6.5.3　　I 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

サルでの単回投与

Report Number: P2000087　　Location: 4.2.2.2.9　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A Single Dose Pharmacokinetic and Oral Bioavailability Study of GS-7340-02 in Rhesus Monkeys

Species	Rhesus monkeys											
Feeding Condition	Fasted											
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid											
Method of Administration	Nasogastric gavage											
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96 h											
Sample	Plasma											
Assay	LC/MS/MS											
Test Article	TAF (monofumarate)											
Dose (mg/kg)	0.5				5				50			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3		F/3		M/3		F/3		M/3		F/3	
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
PK Parameters												
t_{max} (h)	0.40	1.00	0.33	1.00	0.80	1.33	0.80	1.30	0.40	1.00	0.70	1.00
C_{max} (ng/mL)	3.92	8.50	1.65	6.94	161	169	88.6	152	5388	1576	2897	1076
$t_{½}$ (h)	NC	4.24	0.61	7.18	0.27	10.0	0.19	12.6	0.22	23.9	0.57	14.8
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)	1.85	34.0	0.60	45.9	131	1151	59.5	924	5038	13119	2583	6749
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng•h/mL)	NC	43.5	2.47	62.0	77.3	1186	82.0	951	5109	13585	2584	6914
MRT (h)	0.43	6.72	0.59	11.0	0.98	11.8	0.88	11.8	0.77	20.0	0.90	15.9

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.3　　I 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

サルでの単回投与（続き）

Report Number: P2000087　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A Single Dose Pharmacokinetic and Oral Bioavailability Study of GS-7340-02 in Rhesus Monkeys

Species	Rhesus monkeys							
Feeding Condition	Fasted							
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid							
Method of Administration	Nasogastric gavage							
Sampling Points	2, 24,96 h							
Sample	PBMC							
Assay	LC/MS/MS							
Test Article	TAF (monofumarate)							
Analytes	TFV Extract Concentration (ng/mL)				Total Converted TFV Extract Concentration[a] (ng/mL)			
Dose (mg/kg)	5		50		5		50	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
2 h	4.03	BLQ	167	60.9	5.15	BLQ	311	130
24 h	BLQ	BLQ	53.3	57.2	4.46	7.57	137	134
96 h	BLQ	BLQ	21.7	18.2	BLQ	BLQ	66.7	40.6

BLQ = below the limit of quantitation (2 ng/mL); F = female; M = male; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
a　Phosphorylated metabolites of TFV were converted to TFV by treatment with acid phosphatase for 30 minutes at 40ºC.

2.6.5.4　　A 薬物動態試験：吸収：反復投与

マウスでの反復投与

Report Number: TX-120-2006　　Location: 4.2.3.2.1　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: 2-Week Non-GLP Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of GS-7340-02 in CD-1 Mice

Species	CD-1 mouse					
Feeding Condition	Not fasted					
Vehicle / Formulation	0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose K100LV, 0.1% (v/v) Tween 20 in reverse osmosis water					
Method of Administration	Oral Gavage					
Dose	100, 500, 1000 mg/kg/day					
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 4, 8, 24 h on Day 1 and 14, Pre-dose, 0.25, 0.5, 1 h on Day 8					
Sample	Plasma					
Assay	LC/MS/MS					
Analyte	TAF (mean)					
	100 mg/kg/day		500 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
	Day 1					
C_{max} (ng/mL)	16.4	6.74	7573	4940	14567	5482
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.50	1.00	1.00	0.50
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NC	NC	16305	9714	36785	9224
	Day 8					
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	29233	29867
T_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.25	0.50
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	NA	NA	NA	19617	15919

NA = not applicable; NC = not calculated

2.6.5.4　　A 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

マウスでの反復投与（続き）

Report Number: TX-120-2006　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: 2-Week Non-GLP Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of GS-7340-02 in CD-1 Mice

Analyte	TAF(mean)					
	Day 14					
	100 mg/kg/day		500 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
C_{max} (ng/mL)	27.1	2.89	1531	3987	NA	NA
T_{max} (h)	0.50	0.25	0.50	0.50	NA	NA
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng· h/mL)	NC	NC	880	2055	NA	NA

NA = not applicable; NC = not calculated

2.6.5.4　　A 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

マウスでの反復投与（続き）

Report Number: TX-120-2006　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: 2-Week Non-GLP Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of GS-7340-02 in CD-1 Mice

Analyte	TFV (mean)					
	100 mg/kg/day		500 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
	Day 1					
C_{max} (ng/mL)	929	960	4460	3920	4670	5347
T_{max} (h)	0.25	0.50	0.50	1.00	1.0	0.25
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	5812	4869	24969	26915	52432	44055
	Day 8					
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	6077	7830
T_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	1.0	0.50
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	NA	NA	NA	5455	5891
	Day 14					
C_{max} (ng/mL)	1438	1050	3690	4167	NA	NA
T_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50	NA	NA
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	5973	5506	27156	30774	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　　B 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

マウスでの反復投与

Report Number: TX-120-2007　　Location: 4.2.3.2.2　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with GS-7340-02 in Mice

Species	CD-1 mouse					
Feeding Condition	Not fasted					
Vehicle / Formulation	0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose K100LV, 0.1% (v/v) Tween 20 in reverse osmosis water					
Method of Administration	Oral Gavage					
Dose	10, 30, 100 mg/kg/day					
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 4, 8, 24 h on Day 1 and Week 13					
Assay	LC/MS/MS					
Analyte	TFV (mean)[a]					
	10 mg/kg/day		30 mg/kg/day		100 mg/kg/day	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
	Day1					
C_{max} (ng/mL)	62.3	57.6	248	337	1024	999
T_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	148	193	1140	1424	5829	7239
	Week 13					
C_{max} (ng/mL)	58.8	99.6	422	280	958	767
T_{max} (h)	0.50	0.25	0.50	0.25	0.25	0.25
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	191	239	1561	1453	7797	6545

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
a　Due to the limited concentration of TAF, PK parameters could not calculated.

2.6.5.4　C 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

ラットでの反復投与

Report Number: R990182-PK　　Location: 4.2.3.2.3　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Tenofovir (GS-1278) Plasma Toxicokinetics from A 28-Day Oral Toxicity Study of GS-7340-2 in the Albino Rat

Species	Sprague-Dawley rat									
Feeding Condition	Not fasted									
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid									
Method of Administration	Oral Gavage									
Dose	1.5, 6.25, 25, 100, 400 mg/kg/day									
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day 1 and 28									
Assay	LC/MS/MS									
Analyte	TFV									
	1.5 mg/kg/day		6.25 mg/kg/day		25 mg/kg/day		100 mg/kg/day		400 mg/kg/day	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/8	F/8	M/8	F/8	M/8	F/8	M/8	F/8	M/8	F/8
	Day 1									
C_{max} (ng/mL)	35.5	35.6	167	229	1340	1970	6970	6990	12900	20100
T_{max} (h)	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng· h/mL)	45.5	49.2	288	296	2430	2770	12700	13600	61800	78400
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng· h/mL)	NC	NC	378	352	2580	2850	13500	13900	65200	81400
	Day 28									
C_{max} (ng/mL)	49.7	52.8	169	211	1300	1690	4780	6160	10300	14400
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50	0.50
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng· h/mL)	52.7	55.1	358	321	2450	2820	12200	14600	62700	75100
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng· h/mL)	NC	NC	399	396	2630	2960	14100	15500	67600	80800

F = female; M = male; NC = not calculatble due to insufficient data; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　D 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

ラットでの反復投与

Report Number: TOX-120-001　　Location: 4.2.3.2.4　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A 26-WEEK ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF GS-7340-02 IN THE ALBINO RAT

Species	Sprague-Dawley rat					
Feeding Condition	Not fasted					
Vehicle / Formulation	0.5% polysorbate 20, NF; 0.5% carboxymethylcellulose ; 0.9%Benzyl Alcohol					
Method of Administration	Oral Gavage					
Dose	5, 25, 100 mg/kg/day					
Sampling Points	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day 1 ,Week 13, and Week 26					
Assay	LC/MS/MS					
Analyte	TFV					
	5 mg/kg/day		25 mg/kg/day		100 mg/kg/day	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4	F/4	M/4	F/4	M/4	F/4
	Day1					
C_{max} (µg/mL)	0.326	0.292	1.214	1.354	5.071	4.817
T_{max} (h)	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	0.50
AUC_{inf} (µg· h/mL)	0.625	0.584	3.024	3.704	12.555	12.275
	Week 13					
C_{max} (µg/mL)	0.337	0.351	1.335	1.593	4.766	6.262
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.50	0.25
AUC_{tau} (µg· h/mL)	0.798	0.656	3.639	3.809	15.844	14.245
	Week 26					
C_{max} (µg/mL)	0.282	0.252	1.249	1.798	4.499	5.323
T_{max} (h)	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	0.25
AUC_{tau} (µg· h/mL)	0.739	0.601	3.526	3.991	15.931	15.138

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　E 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与

Report Number: AD-120-2033　Location: 4.2.2.2.10　Test Article: TAF (hemifumarate)

Report Title: Plasma and Liver Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide (GS-7340) Following 7-Day Oral Administration in Male Beagle Dogs

Species	Beagle dogs						
Feeding Condition	Not fasted						
Vehicle / Formulation	0.1% (w/w) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV, 0.1% polysorbate 20 in water						
Method of Administration	Oral Gavage						
Sampling Points	Plasma: Pre-dose and 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day1 and 7, Liver: 4 and 24 h on Day7						
Dose	8.29 mg/kg/day						
Assay	LC/MS/MS						
Test Article	TAF (hemifumarate)						
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4						
Sample	Plasma				Liver		
Sample Collection Time	Day 1		Day 7		Day 7		
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TFV	TFV-MP	TFV-DP
PK Parameters							
t_{max} (h)	0.17	0.75	0.17	0.75	4.00	4.00	4.00
C_{max} (µg/mL)	2.15	0.42	1.12	0.61	4.33	27.3	108
$t_{½}$ (h)	0.30	15.7	0.28	19.2	NA	NA	NA
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	0.88	1.95	0.37	3.39	NA	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate; TFV-MP = tenofovir monophosphate
TAF 1 µmol/L =0.477 µg/mL, TFV 1 µmol/L = 0.287 µg/mL, TFV-MP 1 µmol/L =0.367 µg/mL, TFV-DP 1 µmol/L =0.447 µg/mL

2.6.5.4　　F 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与

Report Number: D990175-PK　　Location: 4.2.3.2.5　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Toxicokinetics of a 28-Day Oral Gavage Toxicity Study of GS-7340-02 in the Beagle Dog

Species	Beagle dogs
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid
Method of Administration	Oral Gavage
Sampling Points	Pre-dose, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h on Day 1 and 28, Pre-dose on Day 8, 15 and 22
Sample	Plasma
Assay	LC/MS/MS

Analyte	TAF											
Dose (mg/kg/day)	1.0				3.0				10.0			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4		F/4		M/4		F/4		M/4		F/4	
Sample Collection Time	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28
PK Parameters												
t_{max} (h)	0.33	0.42	0.25	0.33	0.31	0.31	0.50	0.50	0.44	0.44	0.38	0.38
C_{max} (µg/mL)	0.02	0.03	0.02	0.02	0.05	0.11	0.06	0.10	0.86	2.07	0.75	1.01
$t_{½}$ (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.31	0.65	0.33	0.56
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.60	NA	0.41	NA
$AUC_{0-\tau}$(µg•h/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.30	NA	0.86
T_{last} (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.50	3.00	1.00	3.00
C_{last} (µg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	0.07	0.18	0.05

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.4　　F 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与（続き）

Report Number: D990175-PK　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Toxicokinetics of a 28-Day Oral Gavage Toxicity Study of GS-7340-02 in the Beagle Dog

Species	Beagle dogs
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid
Method of Administration	Oral Gavage
Sampling Points	Pre-dose, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h on Day1 and 28, Pre-dose on Day8, 15 and 22
Sample	Plasma
Assay	LC/MS/MS

Analyte	TFV											
Dose (mg/kg/Day)	1.0				3.0				10.0			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4		F/4		M/4		F/4		M/4		F/4	
Sample Collection Time	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28
PK Parameters												
t_{max} (h)	NA	3.50	NA	4.75	1.13	1.25	1.75	0.88	1.25	0.81	0.75	0.63
C_{max} (µg/mL)	NA	0.06	NA	0.07	0.12	0.09	0.15	0.13	0.38	0.55	0.40	0.43
$t_{½}$ (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16.3	>24	16.6	>24
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.85	NA	1.78	NA
$AUC_{0-\tau}$(µg•h/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.45	NA	5.13
T_{last} (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	21.0	24.0	18.0	24.0
C_{last} (µg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.03	0.16	0.05	0.15

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　　F 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与（続き）

Report Number: D990175-PK　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Toxicokinetics of a 28-Day Oral Gavage Toxicity Study of GS-7340-02 in the Beagle Dog

Species	Beagle dogs					
Feeding Condition	Not fasted					
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid					
Method of Administration	Oral Gavage					
Sampling Points	Pre-dose on Day1, 8, 22 and 28					
Sample	PBMC					
Assay	LC/MS/MS					
Analyte	TFV					
Dose (mg/kg/Day)	1.0		3.0		10.0	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4	F/4	M/4	F/4	M/4	F/4
Intracellular Concentration						
$C_{Day\ 1}$ (µg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
$C_{Day\ 8}$ (µg/mL)	NA	NA	NA	1.80	6.92	7.85
$C_{Day\ 22}$ (µg/mL)	NA	NA	1.70	NA	10.6	10.2
$C_{Day\ 28}$ (µg/mL)	NA	NA	2.44	3.81	19.4	17.5

F = female; M = male; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　　G 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与

Report Number:TOX-120-002　　Location: 4.2.3.2.6　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A 9 MONTH ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF GS-7340-02 IN THE BEAGLE DOG WITH A 3 MONTH RECOVERY PERIOD FOR SELECTED ANIMALS

Species	Beagle dog					
Feeding Condition	Fasted					
Vehicle / Formulation	0.5% polysorbate 20, NF; 0.5% carboxymethylcellulose ; 0.9%Benzyl Alcohol					
Method of Administration	Oral gavage					
Sampling Points	Pre-dose and 30min, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day1, Week13 and 39/40, 48 and 72 h after last dose (recovery animal only)					
Sample	Plasma					
Assay	LC/MS/MS					
Analyte	TAF					
Dose (mg/kg/Day)	2 mg/kg/day		6 mg/kg/day		18/12 mg/kg/day[a]	
Sex (M/F)	M	F	M	F	M	F
	Day 1					
C_{max} (µg/mL)	0.071	0.091	0.794	0.648	3.776	3.413
AUC_{0-t} (µg· h/mL)	0.030	0.038	0.412	0.326	2.172	1.967
	Week 13					
C_{max} (µg/mL)	0.109	0.160	1.232	0.959	3.570	2.996
AUC_{0-t} (µg· h/mL)	0.055	0.081	0.773	0.541	2.663	1.901
	Week 39/40					
C_{max} (µg/mL)	0.141	0.134	1.608	1.231	2.948	2.290
AUC_{0-t} (µg· h/mL)	0.094	0.063	1.289	0.776	2.161	1.747

2.6.5.4　　G 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

イヌでの反復投与（続き）

Report Number:TOX-120-002　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A 9 MONTH ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF GS-7340-02 IN THE BEAGLE DOG WITH A 3 MONTH RECOVERY PERIOD FOR SELECTED ANIMALS

Analyte	TFV					
Dose (mg/kg/Day)	2 mg/kg/day		6 mg/kg/day		18 mg/kg/day[a]	
	M	F	M	F	M	F
	Day1					
C_{max} (µg/mL)	0.080	0.076	0.220	0.289	0.823	0.776
AUC_{0-24} (µg· h/mL)	0.422	0.382	1.168	1.444	3.780	3.822
	Week 13					
C_{max} (µg/mL)	0.168	0.156	0.540	0.586	1.400	1.146
AUC_{0-24} (µg· h/mL)	1.252	1.161	3.800	4.399	14.130	11.235
	Week39/40					
C_{max} (µg/mL)	0.203	0.159	0.481	0.601	1.311	1.327
AUC_{0-24} (µg· h/mL)	1.296	1.066	3.894	5.008	14.896	12.567

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

a The dose of 18 mg/kg/day was decreased to 12 mg/kg/day on Day 2 of Week 7 for males and Day 2 of Week 8 for females due to severe clinical sighns and reduces body weight and food consumption.

2.6.5.4　H 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

サルでの反復投与

Report Title: P2000114-PK　Location: 4.2.3.2.7　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: Toxicokinetics from a 28 Day Toxicity Study of GS-7340-02 and Tenofovir (GS-1278) Administered Orally to Rhesus Monkeys

Species	Rhesus monkeys															
Feeding Condition	Fasted															
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid															
Method of Administration	Nasogastric gavage															
Sampling Points	1, 4, 12, 24 h on Day1, Pre-dose on Day14, Pre-dose, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day 28															
Sample	Plasma															
Assay	LC/MS/MS															
Dose (mg/kg/Day)	3								30							
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3				F/3				M/3				F/3			
Sample Collection Time	Day 1		Day 28		Day 1		Day 28		Day 1		Day 28		Day 1		Day 28	
Analyte	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV	TAF	TFV
PK Parameters																
t_{max} (h)	1.00	1.00	1.00	2.33	1.00	1.00	0.83	1.00	1.00	1.00	0.50	0.75	1.00	1.00	0.50	0.67
C_{max} (µg/mL)	0.003	0.09	0.01	0.05	0.005	0.09	0.02	0.05	2.29	0.96	2.21	1.24	0.49	0.85	0.82	0.78
$t_{½}$ (h)	NA	7.77	NA	12.9	NA	8.41	NA	14.2	NA	14.8	0.18	15.6	NA	10.3	0.43	16.4
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	NA	0.45	NA	NA	NA	0.49	NA	NA	NA	8.70	NA	NA	NA	4.63	NA	NA
$AUC_{0-\tau}$ (µg•h/mL)	NA	NA	NA	0.32	NA	NA	NA	0.38	NA	NA	1.53	7.36	NA	NA	0.70	4.89
$MRT_{0-\infty}$ (h)	NA	9.38	NA	16.6	NA	10.8	NA	17.4	NA	19.9	0.71	17.7	NA	12.9	0.87	20.2

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.4　　H 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

サルでの反復投与（続き）

Report Title: P2000114-PK　　Test Article: TFV

Report Title: Toxicokinetics from a 28 Day Toxicity Study of GS-7340-02 and Tenofovir (GS-1278) Administered Orally to Rhesus Monkeys

Species	Rhesus monkeys			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid			
Method of Administration	Nasogastric gavage			
Sampling Points	1, 4, 12, 24 h on Day1, Pre-dose on Day14, Pre-dose, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day 28			
Sample	Plasma			
Assay	LC/MS/MS			
Analyte	TFV			
Dose (mg/kg/Day)	15			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3		F/3	
Sample Collection Time	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28
PK Parameters				
t_{max} (h)	1.00	1.5	2.00	2.17
C_{max} (µg/mL)	0.16	0.15	0.12	0.18
$t_{½}$ (h)	6.79	17.6	11.2	12.6
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	1.01	NA	1.01	NA
$AUC_{0-\tau}$ (µg•h/mL)	NA	1.19	NA	1.46
$MRT_{0-\infty}$ (h)	8.83	21.8	16.0	16.8

F = female; M = male; NA = not applicable; TFV = tenofovir

2.6.5.4　　H 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

サルでの反復投与（続き）

Report Title: P2000114-PK　　Test Article: TAF (monofumarate), TFV

Report Title: Toxicokinetics from a 28 Day Toxicity Study of GS-7340-02 and Tenofovir (GS-1278) Administered Orally to Rhesus Monkeys

Species	Beagle dogs					
Feeding Condition	Fasted					
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid					
Method of Administration	Nasogastric gavage					
Sampling Points	Pre-dose on Day14 and 28					
Sample	PBMC					
Assay	LC/MS/MS					
Analytes	TFV					
Test article/ Dose (mg/kg/Day)	TAF/3		TAF/30		TFV/15	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
Intracellular concentrations						
C_{Day14} (µg/mL)	NA	NA	70.9	73.6	NA	NA
C_{Day28} (µg/mL)	NA	NA	31.1	24.6	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布

マウスでの組織内分布

Report Number: AD-120-2011　　Location: 4.2.2.3.1　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of ^{14}C-GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Species	CD-1 Mice	
Sex (M/F)/No. of Animals	M/30	
Method of Administration	Oral gavage	
Sampling Points	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 h	
Dose (mg/kg/day)	100	
Feeding Condition	Not fasted	
Specific Activity	300 µCi/kg	
Radionuclide	Carbon-14	
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)	
Sample	Plasma/Blood	
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter	
Tabulated PK Results (Mean):		
Sample Type	Plasma	Blood
T_{max} (h)	0.25	0.50
C_{max} (ng eq/g)	24500	23100
$t_{½}$ (h)	15.8	45.0[a]
AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	108675	514848
$AUC_{0-\infty}$ (ng eq•h/g)	111574	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

a　The number of sampling time points in this study does not support the longer half-life calculated. Therefore, the calculated half-life should be interpreted with caution.

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of ^{14}C-GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Species	CD-1 Mice
Sex (M/F) No. of Animals	M/30
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 4, 12, 24, 48, 72 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	300 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Mean Concentrations Postdosing (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)				
Time Point	**Brain**	**Heart**	**Kidney**	**Liver**	**Nasal turbinates**
1 h	604	7660	106000	519000	5680
4 h	183	2440	67500	394000	1750
12 h	198	4290	47900	296000	1870
24 h	219	4870	26900	194000	1540
48 h	159	3550	13400	83600	1170
72 h	88.9	1460	5820	55700	546

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Species	CD-1 Mice
Sex (M/F) / No. of Animals	M/9
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.5, 1, 3, 8, 12, 24, 48, 96, 168 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	300 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Quantitative whole body autoradiography

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**A18225 0.5 h**	**A18226 1 h**	**A18227 3 h**	**A18228 8 h**	**A18229 12 h**	**A18230 24 h**	**A18231 48 h**	**A18232 96 h**	**A18233 168 h**
Adrenal gland(s)	9920[a]	27500[a]	9450[a]	5420	3010	3600	2550	1530[a]	669[a]
Bile	60300	127000	115000	NR	65900	12900	12200	5940	NR
Blood	14600	14500	5280	8640	4380	6100	4100	2710	1000
Bone	1300	2420	1230	1140	1010	525	BLQ	372	ND
Bone marrow	4730	6610	2030	1670	2040	2120	1190	1140	513
Brain cerebellum	569	1940	395	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Brain cerebrum	768	1430	BLQ	BLQ	379	BLQ	BLQ	ND	ND
Brain medulla	420	833	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**A18225 0.5 h**	**A18226 1 h**	**A18227 3 h**	**A18228 8 h**	**A18229 12 h**	**A18230 24 h**	**A18231 48 h**	**A18232 96 h**	**A18233 168 h**
Brain olfactory lobe	1120	2890	464	398	461	BLQ	BLQ	ND	ND
Cecum	3440	6960	90500	63200	19100	8310	2290	2540	1310
Diaphragm	40600	167000	46600	82900	26600	28300	19000	10300	3320
Epididymis	3600	22300	1310	508	540	864	BLQ	ND	ND
Esophagus	38400	90800	57300	114000	20100	8660	8660	5860	933
Exorbital lacrimal gland	3600	5460	1400	1840	1250	1290	748	729	364
Eye lens	967	2980	508	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Eye uveal tract	4180	3690	754	488	947	779	BLQ	ND	ND
Eye(s)	1880	2660	539	312	418	363	BLQ	BLQ	ND
Fat (abdominal)	1250	1170	968	757	512	787	BLQ	ND	ND
Fat (brown)	3070	5590	2530	3790	2060	3030	1920	1060	BLQ
Gall bladder	335000	216000	108000	NR	68100	37100	20900	29200	NR
Harderian gland	4240	6500	1530	2050	2170	1390	764	1210	487
Intra-orbital lacrimal gland	7630	3580	1900	1190	2280	1500	NR	ND	442
Kidney cortex	92300	89000	74000	37400	30000	23100	10500	7300	2830
Kidney medulla	65000	70000	54800	29600	18100	12800	7070	4430	1670
Kidney(s)	84800	86100	68900	33700	25900	19900	9090	6080	2300
Large intestine	6680	8090	7730	96100	22500	6770	3100	2200	607

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**A18225 0.5 h**	**A18226 1 h**	**A18227 3 h**	**A18228 8 h**	**A18229 12 h**	**A18230 24 h**	**A18231 48 h**	**A18232 96 h**	**A18233 168 h**
Liver	282000	447000	290000	295000	197000	164000	77000	44600	19000
Lung(s)	13200	23900	4000	8900	10000	11500	6890	5220	1820
Lymph node(s)	5190	7750	1680	1690	1760	2280	1470	2090	468
Muscle	1680	2100	466	522	768	579	363	366	BLQ
Myocardium	7570	11700	2380	4100	4600	4620	3430	3500	905
Nasal turbinates	2720	6440	1290	1170	983	1190	519	709	370
Pancreas	6130	14500	2950	2970	3540	2880	1760	1970	917
Pituitary gland	2910	7440	1280	1390	2510	1300	663	718	BLQ
Preputial gland	1900	2580	635	390	708	503	BLQ	ND	ND
Prostate gland	5500	2880	2150	16500	3060	2590	427	440	ND
Salivary gland(s)	5390	11500	1880	2210	2420	2160	1130	907	511
Seminal vesicle(s)	1790	3410	957	27000	852	620	462	BLQ	ND
Skin (nonpigmented)	8520	5580	1510	939	674	715	368	BLQ	ND
Small intestine	8770	74500	88100	54900	14100	4040	3400	3520	1610
Spinal cord	757	1210	BLQ	437	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Spleen	6100	12900	3850	4700	5460	6270	4020	3040	1430
Stomach	77600	39300	26600	49700	5460	5940	5870	1760	571
Stomach mucosa	96900	46900	19800	44000	5280	3660	5910	2550	638

2.6.5.5 A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**A18225 0.5 h**	**A18226 1 h**	**A18227 3 h**	**A18228 8 h**	**A18229 12 h**	**A18230 24 h**	**A18231 48 h**	**A18232 96 h**	**A18233 168 h**
Stomach wall	48600	24500	26600	34700	7690	22700	4230	3940	378
Testis(es)	1160	1490	774	BLQ	BLQ	319	ND	ND	ND
Thymus	2510	6140	914	1300	903	1190	808	789	BLQ
Thyroid	7120	12100	2830	2290	1200	4600	3200	3500	1530
Urinary bladder	ND[b]	174000	85600	ND[b]	5800	10300	9240	2800	924
Urine	1790000	413000	200000	351000	36800	24700	14600	327	BLQ

BLQ = below the limit of quantitation (< 311 ng equivalents [^{14}C]-TAF/g); F = female; M = male; ND = not detectable; NR = not represented; TAF = tenofovir alafenamide

a Tissue appeared to be fat-soaked.

b Not detectable due to flare from urine.

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Species	C57 Black Mice
Sex (M/F) / No. of Animals	M/9
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.5, 1, 3, 12, 24, 96, 168, 240, 336 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	300 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Quantitative whole body autoradiography

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
Tissue	**A19068**	**A19069**	**A19070**	**A19071**	**A19072**	**A19073**	**A19074**	**A19075**	**A19076**
	0.5 h	**1 h**	**3 h**	**12 h**	**24 h**	**96 h**	**168 h**	**240 h**	**336 h**
Adrenal gland(s)	34000[a]	26400	20400	7750[a]	10400[a]	2710	2310	1610[a]	1430
Bile	198000	136000	150000	40300	26600	3620	1020	2360	2160
Blood	16700	9270	7910	4170	3780	1100	788	675	BLQ
Bone	11200	4490	4900	2430	1770	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	24300	19000	16100	6440	6470	ND	ND	ND	ND

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	A19068	**A19069**	**A19070**	**A19071**	**A19072**	**A19073**	**A19074**	**A19075**	**A19076**
Tissue	**0.5 h**	**1 h**	**3 h**	**12 h**	**24 h**	**96 h**	**168 h**	**240 h**	**336 h**
Brain cerebellum	611	590	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	1240	661	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	886	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	3790	1730	1640	688	707	ND	ND	ND	ND
Cecum	25400	95400	ND[b]	50500	10500	BLQ	ND	ND	ND
Diaphragm	60300	103000	114000	27500	25900	2340	2360	1830	1410
Epididymis	10800[a]	4190	4990	2120	2150[a]	ND	ND	ND	ND
Esophagus	76100	81300	48900	27900	8540	1540	1660	723	ND
Exorbital lacrimal gland	18100	12000	11800	4910	3530	1050	1010	940	ND
Eye lens	4310	1870	1110	527	BLQ	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	13400	12200	11600	4740	6140	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	5000	2920	2440	1040	1060	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	5460	6820	2140	4180	1700	6410	BLQ	BLQ	BLQ
Fat (brown)	19200	18700	14500	10800	8660	2420	1190	812	569
Gall bladder	163000	379000	275000	94000	39800	6580	4130	ND	ND
Harderian gland	18500	14600	13600	6200	4580	861	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	NR	NR	NR	NR	3760	ND	ND	ND	ND
Kidney cortex	137000	125000	104000	58000	34500	5660	5350	4300	2530
Kidney medulla	125000	94700	80000	40200	19400	3640	2980	2620	1820

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	A19068	**A19069**	**A19070**	**A19071**	**A19072**	**A19073**	**A19074**	**A19075**	**A19076**
Tissue	**0.5 h**	**1 h**	**3 h**	**12 h**	**24 h**	**96 h**	**168 h**	**240 h**	**336 h**
Kidney(s)	132000	107000	89600	47500	29500	4820	4540	3550	2240
Large intestine	25700	17300	32300	74200	35000	2930	1530	795	BLQ
Liver	488000	490000	385000	282000	118000	21900	14200	9840	7510
Lung(s)	32300	32500	26500	18100	13500	4440	4260	3330	2120
Lymph node(s)	17900	14600	12600	8020	10900	ND	ND	ND	ND
Muscle	8780	4140	3190	2010	3900	753	982	650	491
Myocardium	23200	13500	13600	8470	9510	2490	2170	2070	1540
Nasal turbinates	10600	2980	3550	2390	1920	799	ND	ND	ND
Pancreas	34900	26900	31500	15400	13900	1780	1940	1650	1220
Pituitary gland	17400	8440	6590	850	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	11500	6390	6130	2240	1970	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	ND[c]	8630	4840	8620	ND	ND	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	36200	24200	27200	9910	12200	1150	1080	899	522
Seminal vesicle(s)	5540	3530	2470	2150	825	BLQ	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	11600	5930	3350	1180	1340	ND	ND	ND	ND
Small intestine	26900	56100	28000	14100	11300	5030	ND	ND	ND
Spinal cord	1950	742	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	35300	29600	29100	16600	12200	2570	2560	1550	978
Stomach	60500	70600	29200	7900	6730	1610	1500	1230	859

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	A19068	**A19069**	**A19070**	**A19071**	**A19072**	**A19073**	**A19074**	**A19075**	**A19076**
Tissue	**0.5 h**	**1 h**	**3 h**	**12 h**	**24 h**	**96 h**	**168 h**	**240 h**	**336 h**
Stomach mucosa	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Stomach wall	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Testis(es)	2640	1760	1070	512	752	ND	ND	ND	ND
Thymus	12400	8190	7190	3440	3410	BLQ	ND	ND	ND
Thyroid	40700	32700	29000	NR	10900	4840	4150	3160	2620
Urinary bladder	ND[c]	138000	49100	12000	6290	1290	ND	ND	ND
Urine	1170000	626000	128000	135000	18400	495	ND	ND	ND

BLQ = below the limit of quantitation (< 490 ng equivalents [^{14}C]-TAF/g); F = female; M = male; ND = not detectable; NR = not represented; TAF = tenofovir alafenamide

a　Tissue appeared to be fat-soaked.
b　Not detectable due to flare from cecum contents.
c　Not detectable due to flare from urine.

2.6.5.5　　A 薬物動態試験：分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2011　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Mice

Species	CD-1 Mice
Sex (M/F) / No. of Animals	M/4
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-12, 12-24 and 24 h intervals through 168 h, Feces: 24 h intervals through 168 h, Cage rinse: 24 h intervals through 144 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	300 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)			
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total**
0-12 h	9.75	NA	NA	9.75
0-24 h	19.3	31.1	3.95	54.4
0-48 h	24.6	36.1	4.91	65.6
0-72 h	25.9	37.6	5.50	69.0
0-96 h	26.7	39.4	6.06	72.2
0-120 h	27.1	40.4	6.40	73.9
0-144 h	27.4	41.0	6.65	75.1
0-168 h	27.7	41.3	NA	69.0

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布

Report Number: AD-120-2020　　Location: 4.2.2.3.2　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Species	Sprague-Dawley Rats	
Sex (M/F)/No. of Animals	M/15	
Method of Administration	Oral gavage	
Sampling Points	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168 h	
Dose (mg/kg/day)	5	
Feeding Condition	Fasted	
Specific Activity	100 µCi/mg	
Radionuclide	Carbon-14	
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)	
Sample	Plasma/Blood	
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter	
Tabulated PK Results (Mean)		
Sample Type	Plasma	Blood
T_{max} (h)	0.25	0.25
C_{max} (ng eq/g)	1110	603
$t_{½}$ (h)	14.1	21.5
AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	3591	2432
$AUC_{0-\infty}$ (ng eq•h/g)	3870	2588

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Species	Sprague-Dawley Rats
Sex (M/F) / No. of Animals	M/9
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.25, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	100 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Quantitative whole body autoradiography

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B35426	**B35427**	**B35428**	**B35429**	**B35430**	**B35431**	**B35432**	**B35433**	**B35434**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Adrenal gland(s)	181[a]	129[a]	BLQ[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arterial wall	817	299	118	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	1070	334	138	76.6	83.1	ND	ND	ND	ND
Bone	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	233	125	72.6	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B35426	**B35427**	**B35428**	**B35429**	**B35430**	**B35431**	**B35432**	**B35433**	**B35434**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Brain cerebellum	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	45.7	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	396	177	236	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	218	132	541	313	NR	323	261	ND	ND
Diaphragm	210	145	52.9	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Epididymis	249[a]	101[a]	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Esophagus	341	222	187	79.8	58.9	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	234	101	51.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye lens	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	409	187	78.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye vitreous humor	84.9	89.3	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	86.1	92.7	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	200	97.1	48.2	BLQ	55.7	ND	ND	ND	ND
Harderian gland	98.6	52.4	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	250	118	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B35426	**B35427**	**B35428**	**B35429**	**B35430**	**B35431**	**B35432**	**B35433**	**B35434**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Kidney cortex	10700	12400	11800	6410	8300	2010	677	70.3	ND
Kidney medulla	8240	5040	2800	1210	1010	317	161	BLQ	ND
Kidney(s)	9520	8710	8250	4720	4590	1380	511	52.0	ND
Large intestine	364	140	55.8	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Liver	6730	6730	4010	2410	3570	1090	751	145	195
Lung(s)	592	211	81.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lymph node(s)	318[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	101	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	361	136	58.6	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	123	83.8	52.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pancreas	215	120	68.9	46.1	52.0	ND	ND	ND	ND
Pituitary gland	335	116	50.5	BLQ	76.2	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	140[a]	60.1[a]	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	134	88.6	117	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	292	119	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Seminal vesicle(s)	62.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	393	123	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Small intestine	479	500	364	284	86.5	171	58.3	ND	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B35426	**B35427**	**B35428**	**B35429**	**B35430**	**B35431**	**B35432**	**B35433**	**B35434**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Spinal cord	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	147	105	59.0	BLQ	62.8	BLQ	ND	ND	ND
Stomach	475	126	66.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Testis(es)	98.2	50.9	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thymus	91.2	68.1	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	324	147	63.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tooth pulp	646	228	84.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	925	205	ND [b]	BLQ	1050	BLQ	ND	ND	ND
Urine	112000	34400	51100	3260	14500	988	645	88.3	ND

BLQ = below the limit of quantitation (< 45.6 ng equivalents [^{14}C]-TAF/g); F = female; M = male; ND = not detectable; NR = not represented (tissue not present in section); TAF = tenofovir alafenamide

a　Tissue appeared to be fat-soaked.
b　Not detectable due to flare from urine.

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Species	Long Evans rats
Sex (M/F) / No. of Animals	M/9
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.25, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	100 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF /Quantitative whole body autoradiography

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	B35435	**B35436**	**B35437**	**B35438**	**B35439**	**B35440**	**B35441**	**B35442**	**B35443**
Tissue	**0.25h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Adrenal gland(s)	353[a]	115	48.5[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arterial wall	1350	270	90.4	93.8	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	1260	221	116	125	117	ND	ND	ND	ND
Bone	50.4	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	311	84.9	BLQ	62.4	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain cerebellum	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	B35435	**B35436**	**B35437**	**B35438**	**B35439**	**B35440**	**B35441**	**B35442**	**B35443**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Brain cerebrum	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	57.2	51.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	831	209	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	603	118	889	462	362	494	101	BLQ	ND
Diaphragm	353	124	55.8	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Epididymis	516	79.3	BLQ	58.4	ND	ND	ND	ND	ND
Esophagus	923	218	186	637	65.8	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	353	56.1	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Eye lens	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	555	89.5	59.4	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Eye vitreous humor	139	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	150	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	70.0	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	232	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Harderian gland	209	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	402	53.4	49.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney cortex	8000	8890	6980	7360	5150	2440	570	65.6	ND
Kidney medulla	6900	3670	655	1920	757	367	117	BLQ	ND
Kidney(s)	7750	7570	5160	5260	3000	1310	390	48.1	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	B35435	**B35436**	**B35437**	**B35438**	**B35439**	**B35440**	**B35441**	**B35442**	**B35443**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Large intestine	548	91.5	474	97.5	133	132	575	166	ND
Liver	10300	7800	7710	6670	5610	1380	671	221	139
Lung(s)	854	145	67.2	76.5	66.3	BLQ	ND	ND	ND
Lymph node(s)	422[a]	94.9[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	115	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	512	46.6	BLQ	72.7	BLQ	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	201	71.9	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pancreas	274	82.1	53.5	71.0	ND	ND	ND	ND	ND
Pituitary gland	434	53.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	247	67.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	247	BLQ	49.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	368	85.3	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Seminal vesicle(s)	67.7	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	526	71.8	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	623	78.9	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Small intestine	530	376	122	278	220	98.6	BLQ	ND	ND
Spinal cord	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	231	83.1	58.3	75.8	60.7	BLQ	BLQ	ND	ND
Stomach	682	113	71.4	69.9	159	BLQ	BLQ	ND	ND
Testis(es)	157	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Blood and Tissue radioactivity	**Concentration of Radioactivity (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g) Animal Number (Sacrifice Time)**								
	B35435	**B35436**	**B35437**	**B35438**	**B35439**	**B35440**	**B35441**	**B35442**	**B35443**
Tissue	**0.25 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**12 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**
Thymus	181	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	412	59.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tooth pulp	793	194	78.7	89.3	57.0	NR	ND	ND	ND
Urinary bladder	352[a]	155	125	89.1	45.9	48.3	BLQ	ND	ND
Urine	50200	61000	2280	6540	1140	1500	109	BLQ	ND

BLQ = below the limit of quantitation (< 45.6 ng equivalents [^{14}C]-TAF/g); F = female; M = male; ND = not detectable; NR = not represented (tissue not present in section); TAF = tenofovir alafenamide

a　Tissue appeared to be fat-soaked.

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Methods				
Species	Sprague-Dawley rats			
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3			
Method of Administration	Oral gavage			
Sampling Points	Urine: 0-8, 8-24 and 24 h intervals through 168 h, Feces: 24 h intervals through 168 h, Cage rinse: 24 h intervals through 144 h			
Dose (mg/kg)	5			
Feeding Condition	Fasted			
Radionuclide	Carbon-14			
Specific Activity	100 μCi/kg			
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)			
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter			
	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)			
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total**
0-8 h	14.6 ± 3.78	NA	NA	14.6 ± 3.78
0-24 h	19.8 ± 4.93	66.8 ± 6.14	1.22 ± 0.16	87.9 ± 1.06
0-48 h	21.5 ± 5.45	71.1 ± 4.73	1.46 ± 0.08	94.1 ± 0.71
0-72 h	21.8 ± 5.45	71.6 ± 4.50	1.56 ± 0.15	95.0 ± 1.01
0-96 h	22.0 ± 5.48	71.8 ± 4.52	1.67 ± 0.26	95.4 ± 0.97
0-120 h	22.1 ± 5.47	71.8 ± 4.51	1.70 ± 0.28	95.6 ± 0.90
0-144 h	22.1 ± 5.47	71.9 ± 4.51	1.71 ± 0.28	95.7 ± 0.95
0-168 h	22.2 ± 5.42	71.9 ± 4.49	NA	94.1 ± 0.93

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

Species	Bile Duct-Cannulated Sprague-Dawley rats
Sex (M/F) / No. of Animals	M/5
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-8, 8-24 and 24 h intervals through 168 h, Feces: 24 h intervals through 168 h, Bile: 0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-12, 12-24 h and 24 h intervals through 168 h, Cage rinse: 24 h intervals through 144 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	100 µCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

2.6.5.5　　B 薬物動態試験：分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2020　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Single Oral Administration to Rats

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)				
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Bile**	**Cage Rinse**	**Total**
0-2 h	NA	NA	1.81 ± 0.76	NA	1.81 ± 0.76
0-4 h	NA	NA	1.93 ± 0.76	NA	1.93 ± 0.76
0-6 h	NA	NA	1.97 ± 0.77	NA	1.97 ± 0.77
0-8 h	15.3 ± 1.82	NA	2.00 ± 0.78	NA	17.3 ± 2.18
0-12 h	NA	NA	2.04 ± 0.79	NA	2.04 ± 0.80
0-24 h	21.1 ± 3.42	56.7 ± 15.3	2.09 ± 0.81	0.91 ± 0.17	80.7 ± 11.4
0-48 h	22.7 ± 3.95	70.9 ± 7.10	2.11 ± 0.82	1.14 ± 0.21	96.8 ± 2.58
0-72 h	23.0 ± 4.06	72.3 ± 6.02	2.11 ± 0.82	1.28 ± 0.27	98.6 ± 1.49
0-96 h	23.1 ± 4.11	72.4 ± 5.95	2.11 ± 0.82	1.33 ± 0.29	99.0 ± 1.40
0-120 h	23.2 ± 4.12	72.5 ± 5.96	2.11 ± 0.82	1.35 ± 0.29	99.1 ± 1.40
0-144 h	23.2 ± 4.13	72.5 ± 5.96	2.11 ± 0.82	1.37 ± 0.30	99.2 ± 1.52
0-168 h	23.2 ± 4.15	72.6 ± 5.96	2.11 ± 0.82	NA	97.9 ± 1.35

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布

Report Number: AD-120-2009　　Location: 4.2.2.3.3　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h
Dose Administration	Nonradiolabeled test article was dosed for 4 days followed by a single dose of radiolabeled test article on Day 5
Dose (mg/kg/day)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Mean Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)	
Time Point	**Blood**	**Plasma**
1 h	2220	3180
2 h	1290	1750
6 h	811	783
12 h	449	363
24 h	340	277

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Mean concentrations were calculated from 2 animals/timepoint.

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2009　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10	
Method of Administration	Oral gavage	
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h	
Dose (mg/kg)	15	
Feeding Condition	Fasted	
Radionuclide	Carbon-14	
Specific Activity	10 μCi/kg	
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)	
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter	
	Mean Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)	
Time Point	**Blood**	**Plasma**
1 h	485	778
2 h	1280	1890
6 h	401	355
12 h	295	262
24 h	201	172

F = female; M = male; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Mean concentrations were calculated from 2 animals/timepoint.

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2009　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h
Dose Administration	Nonradiolabeled test article was dosed for 4 days followed by a single dose of radiolabeled test article on Day 5
Dose (mg/kg/day)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Mean Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)					
Tint Point	**Bone**	**Heart**	**Kidney(s)**	**Liver**	**Lung**	**Thyroid**
1 h	2390	3450	45500	74900	8660	15200
2 h	4410	4420	89300	105000	13000	26500
6 h	5600	5310	162000	109000	15000	30500
12 h	4350	4330	144000	84600	9640	21600
24 h	2990	3970	107000	78100	8610	16800

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Samples were collected from 2 animals/time point.

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2009　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Mean Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)					
Time Point	**Bone**	**Heart**	**Kidney(s)**	**Liver**	**Lung**	**Thyroid**
1 h	476	776	17000	47900	2480	2960
2 h	2440	2750	82500	97600	10200	12700
6 h	2600	3070	99700	97000	8870	15600
12 h	2220	2820	91800	78300	6970	16800
24 h	1100	1990	88500	64100	5260	4900

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Samples were collected from 2 animals/time point.

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2009　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h
Dose Administration	Nonradiolabeled test article was dosed for 4 days followed by a single dose of radiolabeled test article on Day 5
Dose (mg/kg/day)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Percent of Radioactive Dose (% of Dose)						
Time Point	**Blood**	**Bone**	**Heart**	**Kidney(s)**	**Liver**	**Lung**	**Thyroid**
1 h	0.64	1.48	0.19	1.39	15.4	0.50	0.013
2 h	0.37	2.70	0.24	2.78	23.1	0.75	0.019
6 h	0.23	3.45	0.26	4.17	19.4	0.87	0.020
12 h	0.13	2.69	0.24	3.93	18.3	0.60	0.011
24 h	0.10	1.85	0.22	2.76	15.0	0.50	0.008

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Samples were collected from 2 animals/time point.

2.6.5.5　　C 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: AD-120-2009　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Absorption and Distribution of ^{14}C-GS-7340 Following Single and Multiple Oral Doses to Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/10
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 2, 6, 12, 24 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

	Percent of Radioactive Dose (% of Dose)						
Tint Point	**Blood**	**Bone**	**Heart**	**Kidney(s)**	**Liver**	**Lung**	**Thyroid**
1 h	0.14	0.30	0.05	0.60	8.78	0.19	0.002
2 h	0.37	1.51	0.17	2.84	19.6	0.62	0.009
6 h	0.12	1.61	0.17	3.46	18.6	0.50	0.009
12 h	0.08	1.37	0.15	3.02	18.2	0.44	0.012
24 h	0.06	0.67	0.10	2.79	13.9	0.34	0.003

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide
Note: Samples were collected from 2 animals/time point.

2.6.5.5　　D 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布

Report Number D990173-BP　　Location: 4.2.2.3.4　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Study G545 “Tissue Distribution of [^{14}C]GS-7340 in Beagle Dogs Following Oral Administration”

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/2
Method of Administration	Oral gavage
Dose (mg/kg)	18.1
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	31.7 µCi/kg
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citric acid
Sampling Points:	24 h postdose
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF / Liquid Scintillation Counter

Distribution of Radioactivity

Tissue/Fluid	Percent of Total Dose (%)	Percent of Recovered Dose[a] (%)	Concentration (µg eq [^{14}C]-TFV/g)
Liver	16.5	26.0	52.9
Kidney	3.78	5.98	80.2
Mesenteric Lymph Nodes	0.04	0.06	6.88
Spleen	0.17	0.27	8.13
Femoral Bone	0.00	0.00	0.28
Bone Marrow	0.00	0.00	2.05
Stomach	0.26	0.41	2.68
Jejunum	0.79	1.26	4.16

2.6.5.5　　D 薬物動態試験：分布（続き）

イヌでの組織内分布（続き）

Report Number: D990173-BP　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Analysis of Data from [redacted] Study G545 “Tissue Distribution of [^{14}C]GS-7340 in Beagle Dogs Following Oral Administration”

Distribution of Radioactivity

Tissue/Fluid	Percent of Total Dose (%)	Percent of Recovered Dose[a] (%)	Concentration (µg eq [^{14}C]-TFV/g)
Duodenum	0.44	0.70	8.77
Ileum	0.16	0.26	4.61
large Intestine	2.66	4.28	47.2
Bile	0.23	0.35	40.5
Feces	0.19	0.15	480
Stomach Content	0.04	0.06	0.91
Small Intestine Content	1.25	2.00	11.3
Large Intestine Content	20.4	32.4	155
Urine	14.7	23.1	25.2
Plasma	0.00	0.00	0.20
PBMCs	0.09	0.14	63.2[b]

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
a　Selected tissues reported. Do not add up to 100%.
b　Estimated based on the mean reported single cell volume of 0.2 picoliters.

2.6.5.6　　A 薬物動態試験：タンパク結合率

イヌ及びヒト血漿タンパク結合率

Report Number: AD-120-2026　　Location: 4.2.2.3.5　　Test Article: TAF

Report Title: Plasma Protein Binding of GS-7340

Study System: Plasma from Dog and Human

Target Entry, Test System, and Methods: Equilibrium dialysis for 3 hours at 37°C against 0.133 mol/L phosphate buffer, pH 7.4. Analysis by LC/MS/MS.

Matrix	**Fraction Unbound (%) (Mean ± SD, n=2)**
Dog plasma	48.0 ± 6.2
Human plasma	46.8 ± 2.3

SD = standard deviation, TAF = tenofovir alafenamide
Note: Incubation concentration of TAF was 2 µmol/L

2.6.5.6　　B 薬物動態試験：タンパク結合率（続き）

ヒト血漿及び血清タンパク結合率

Report Number: P0504-00039.1　　Location: 4.2.2.3.6　　Test Article: TFV

Report Title: Protein Binding of Cidofovir, Cyclic HPMPC, PMEA, and PMPA in Human Plasma and Serum

Study System	*In vitro*	
Target Entity, Test System & Method	Plasma/ serum, ultrafiltration	
Matrix	**TFV Concentration**	**% Unbound**
Human Plasma	0.01 µg/mL	96.9
	2.01 µg/mL	99.9
	5.01 µg/mL	101.0
	10.01 µg/mL	95.0
	25.01 µg/mL	103.5
	Mean (SD)	**99.3 (3.3)**
Human Serum	0.01 µg/mL	90.6
	2.01 µg/mL	92.4
	5.01 µg/mL	97.7
	10.01 µg/mL	88.5
	25.01 µg/mL	94.7
	Mean (SD)	**92.8 (3.6)**

HPMPC = cidofovir; cyclic HPMPC = prodrug of cidofovir; PMEA = adefovir; PMPA = tenofovir; SD = standard deviation

2.6.5.7　　A 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

妊娠ラット

Report Number: TX-120-2001　　Location: 4.2.3.5.2.1　　Test Article: TAF(monofumarate)

Report Title: GS-7340-02: An Oral Range-finding Teratology Study in the Rat

Species	Sprague-Dawley rat					
Gestation Day/ No. of Animals	GD6/3 and GD17/3					
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in ultra pure water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sampling Points	Pre-dose, 30min, 2, 4, 8, 24 h on GD 6 and GD 17					
Assay	LC/MS/MS					
PK parameters	GD 6			GD 17		
Dose (mg/kg/day)	5	100	200	5	100	200
Analyte	TAF					
T_{max} (h)	NC	0.500	0.500	NC	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	NC	209	215	NC	773	397
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NC	NR[a]	NR[a]	NC	NR[a]	649
Analyte	TFV					
T_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	109	4363	6940	218	5710	5923
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	166	12896	26858	414	20588	35682

GD = gestational day; NC = Not calculated; NR = Not reportable; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
a　Only 2 measurable mean concentrations in the profile.

2.6.5.7　　B 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

妊娠ラット

Report Number: TX-120-2002　　Location: 4.2.3.5.2.2　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: An Embryo-fetal Development Study of GS-7340-02 by Oral Gavage in Rats

Species	Sprague-Dawley rats					
Gestation Day/ No. of Animals	GD6/3 amd GD17/3					
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in ultra pure water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sampling Points	Pre-dose, 30 min, 2, 4, 8, 24 h on GD 6 and GD 17					
Assay	LC/MS/MS					
PK parameters	GD 6			GD 17		
Dose (mg/kg/day)	25	100	250	25	100	250
Analyte	TAF					
T_{max} (h)	NC	0.500	0.500	NC	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	NC	38.4	756	NC	149	597
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NC	NC[a]	1376	NC	242	1382
Analyte	TFV					
T_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	1110	2767	9860	870	4130	7350
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	2715	9453	54200	2803	17392	55728

GD = gestational day; NC = Not calculated; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir
a　Only 2 measurable mean concentrations in the profile.

2.6.5.7　C 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

妊娠ウサギ

Report Number: TX-120-2004　Location: 4.2.3.5.2.4　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: A Dosage Range-finding Embryo-fetal Development Study of GS-7340-02 by Oral Gavage in Rabbits

Species	New zealand white rabbit							
Gestation Day/ No. of Animals	GD7/6 and GD20/6							
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in ultra pure water							
Method of Administration	Oral gavage							
Sampling Points	Pre-dose, 30 min, 2, 4, 8, 24 h on GD 7 and GD 20							
Analyte	TAF, TFV							
Assay	LC/MS/MS							
PK parameters								
	GD 7				GD 20			
Dose (mg/kg/day)	5	25	50	100	5	25	50	100
Analyte	TAF							
T_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	9.38	104	349	2036	109	1012	4812	8875
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	125	390	2145	173	1142	5658	10717
Analyte	TFV							
T_{max} (h)	0.500	0.75	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	227	922	1930	3922	187	907	1945	3087
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	1230	5231	8845	20871	1560	6014	11769	23525

GD = gestational day; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.7　　D 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

妊娠ウサギ

Report Number: TX-120-2005　　Location: 4.2.3.5.2.5　　Test Article: TAF (monofumarate)

Report Title: An Embryo-fetal Development Study of GS-7340-02 by Oral Gavage in Rabbits

Species	New zealand white rabbit					
Gestation Day/ No. of Animals	GD6/3 and GD17/3					
Vehicle / Formulation	0.1% (v/v) tween 20 and 0.1% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) K100LV prepared in ultra pure water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sampling Points	Pre-dose, 30 min, 2, 4, 8, 24 h on GD 7 and GD 20					
Assay	LC/MS/MS					
PK parameters	GD 7			GD 20		
Dose (mg/kg/day)	10	30	100	10	30	100
Analyte	TAF					
T_{max} (h)	0.500	1.00	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (ng/mL)	8.46	77.3	846	155	937	9190
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	NA	NA	918	NA	1135	11043
Analyte	TFV					
T_{max} (h)	2.00	1.50	1.00	0.500	1.00	0.500
C_{max} (ng/mL)	261	398	2193	260	676	2970
AUC_{0-t} (ng· h/mL)	1941	3013	13443	2018	5005	27251

GD = gestational day; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir

2.6.5.7　　E 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

妊娠サルに TFV を投与後の胎盤移行性

Report Number: 96-DDM-1278-005　　Location: 4.2.2.3.7　　Test Article: TFV

Report Title: Placental Transfer and Pharmacokinetics of PMPA (GS-1278) in Infant Rhesus Monkeys

Species	Rhesus Monkey
Gestation Day / No. of Animals	Daily dosing beginning at GD 111/ one animal
Vehicle / Formulation	Aqueous suspension
Method of Administration	SC
Sampling Points	25-45 min. on GD 115, 127, 134, 140, 151
Dose (mg/kg)/ day	30
Analyte	TFV
Assay	HPLC

Serum Concentration TFV (µg/mL) 30 min. After Administration

Time (GD)	**115**	**127**	**134**	**140**	**151**	**Mean (SD) [CV%]**
Fetal	7.9	9.1	10.1	15	5.9	9.6 (3.4) [35.4]
Maternal	45.6	61.2	69.4	53.7	56.3	57.2 (8.84) [15.4]
Fetal/Maternal Ratio	0.17	0.15	0.15	0.28	0.11	0.17 (0.07) [38.6]

GD = gestational day; SC = subcutaneous injection; TFV = tenofovir
Additional Information: Based upon the data above, it was concluded that placental transfer of TFV appeared to be significant.

2.6.5.7　　F 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

授乳中のサルに TFV を投与後の乳汁移行

Report Number: P2000116　　Location: 4.2.2.3.8　　Test Article: TFV

Report Title: Pharmacokinetics of Tenofovir in Healthy Adult Female Lactating Rhesus Monkeys Following a Single 30 mg/kg Subcutaneous Dose of Tenofovir

Species	Rhesus Monkey			
Gestation Day / No. of Animals	Healthy adult female lactating animals			
Method of Administration	SC			
Sampling Points	0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h			
Dose (mg/kg)	30, single dose			
Analyte	TFV			
Assay	LC/MS/MS			
	Animal 1		**Animal 2**	
PK Parameters (n=2)	**Milk**	**Serum**	**Milk**	**Serum**
C_{max} (µg/mL)	0.808	18.3	0.610	30.2
t_{max} (h)	4	0.5	1	0.5
$AUC_{0-\infty}$ (µg•h/mL)	12.8	68.9	12.1	56.2
AUC Extrapolated (%)	21.7	0.219	23.3	0.193
C_{last} (µg/mL)	0.188	0.0264	0.179	0.0264
t_{last} (h)	24	24	24	24
CL/F (mL/h/kg)	2338	435	2482	534
$MRT_{0-\infty}$ (h)	16.1	2.79	17.0	3.14
$t_{½}\lambda_z$ (h)	10.3	3.97	10.9	2.85
V_z/F (mL/kg)	34740	2489	39133	2191

2.6.5.8　　薬物動態試験：血球移行率

マウス、ラット及びイヌでの血球移行については M2.6.4, 2.6.5.5A 項、2.6.5.5B 項及び 2.6.5.5C 項に記載した。

2.6.5.9　　A 薬物動態試験：代謝：*in vitro*

TAF の血漿中安定性

Report Number: AD-120-2025　　Location: 4.2.2.4.1　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Metabolism of GS-7340 in Plasma from Dog and Human

Study Systems	Duplicate aliquots of 3 µmol/L TAF were incubated with pooled plasma from beagle dog and human at 37ºC up to 4 hours. Rates of metabolism (*in vitro* half-life values) were determined. Analysis was done by LC/MS.
Species	**Half-Life (min)**
Dog	69.5 ± 3.2
Human	74.7 ± 6.4

TAF = tenofovir alafenamide
Data are mean ± standard deviation, n = 2.

2.6.5.9　　B 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TAF の小腸 S9 画分中安定性

Report Number: AD-120-2024　　Location: 4.2.2.4.2　　Test Article:TAF

Report Title: In Vitro Metabolism of GS-7340 in Intestinal Subcellular Fractions from Dog and Human

Study Systems	Duplicate aliquots of 3 µmol/L TAF were incubated with pooled intestinal S9 fractions from beagle dog and human at 37ºC for up to 90 minutes. Rates of metabolism (*in vitro* half-life values) were determined. Analysis was done by LC/MS
Species	**Half-Life (min)**
Dog	47.1 ± 2.6
Human	58.3 ± 4.4

TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.9　　C 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TAF の肝 S9 画分中安定性

Report Title: AD-120-2023　　Location: 4.2.2.4.3　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Metabolism of GS-7340 in Hepatic Subcellular Fractions from Dog and Human

Study Systems	Duplicate aliquots of 3 µmol/L TAF were incubated with pooled hepatic S9 fractions from beagle dog and human at 37ºC up to 90 minutes. Rates of metabolism (*in vitro* half-life values) were determined and hepatic extraction was predicted using the well-stirred liver model. Analysis was done by LC/MS.

Species	**Half-Life (min)**	**Predicted Hepatic Extraction (%)**
Dog	31.1 ± 3.4	60.5
Human	20.6 ± 0.7	76.2

TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.9　D 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TAF の小腸 S9 画分での他剤による阻害作用の影響

Report Number: AD-120-2027　　Location: 4.2.2.4.4　　Test Article: TAF

Report Title: Effects of HIV Protease Inhibitors and Pharmacokinetic Enhancers on the *In Vitro* Metabolism of GS-7340 in Human Intestinal Subcellular Fraction

Methods:	Duplicate aliquots of 2 µmol/L TAF were incubated with HIV protease inhibitors, atazanavir and darunavir, and the pharmacokinetic enhancers, ritonavir and cobicistat in pooled human intestinal S9 fractions at 37ºC up to 120 minutes. Rates of metabolism (*in vitro* half-life values) were determined. Analysis was done by LC/MS.

Inhibitor or Enhancer	**Concentration (µmol/L)**	**TAF Intestinal S9 Stability, $t_{½}$ (min)**
Vehicle Control	0	24.5 ± 4.1
Atazanavir	25	28.9 ± 5.2
	100	38.9 ± 5.3
Darunavir	25	32.2 ± 5.1
	100	30.8 ± 5.0
Ritonavir	25	19.0 ± 2.8
	100	18.9 ± 1.5
Cobicistat	25	30.1 ± 5.1
	100	32.9 ± 4.8
Dichlorvos (control)	500	>789[a]

SD = standard deviation; TAF = tenofovir alafenamide
a　Less than 10% loss of substrate in 120 min
Data are mean ± SD, n=2 (6 data points per replicate)

2.6.5.9　E 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TAF の代謝に関与する CYP 分子種の同定

Report Title: AD-120-2004　Location: 4.2.2.4.5　Test Article: TAF

Report Title: Cytochrome P450 Metabolic Reaction Phenotyping of GS-7340

Methods	Rates of metabolism of TAF (5 µmol/L) catalyzed by cDNA expressed major human cytochrome P450 enzyme preparations co-expressed with NADPH CYP450 reductase

	Metabolism Rate (min^{-1})					
Test Compound	**CYP1A2**	**CYP2C8**	**CYP2C9**	**CYP2C19**	**CYP2D6**	**CYP3A4**
TAF (% Positive Control)	< 0.12 (< 0.9%)	0.23 (< 0.8%)	< 0.47 (< 1.0%)	< 0.12 (< 40%)	< 0.23 (< 0.9%)	1.9 (26.6%)
Ethoxycoumarin	13.2	NA	NA	NA	NA	NA
Amodiaquine	NA	29.3	NA	NA	NA	NA
Diclofenac	NA	NA	47.3	NA	NA	NA
Diazepam	NA	NA	NA	0.29[a]	NA	NA
Dextromethorphan	NA	NA	NA	NA	25.4	NA
Testosterone	NA	NA	NA	NA	NA	7.2

TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable
a　Diazepam is a selective substrate for CYP2C19 but is metabolized slowly.

2.6.5.9　　F 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TAF の細胞内活性化

Report Number: AD-120-2017　　Location: 4.2.2.4.6　　Test Article: TAF, TFV, TDF

Report Title: *In Vitro* Activation of GS-1278, GS-4331 and GS-7340 in Primary Human Hepatocytes

Study Systems	Duplicate wells of 5 µmol/L test compounds were incubated with primary human hepatocytes for 24 hours. Intracellular concentrations of TFV-DP were determined. Analysis was done by LC/MS/MS.
Sampling Time	24 hours
	TFV-DP Concentration (pmol/million cell)
TFV	12.1
TDF	302
TAF	1,470

TAF = tenofovir alafenamide; TDF = tenofovir disoproxil fumarate; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate
Value represent the mean of duplicate wells.

2.6.5.9　G 薬物動態試験：代謝：*in vitro*（続き）

TFV の肝 S9 画分、小腸 S9 画分及び肝ミクロソームでの代謝

Report Number: 96-DDM-1278-003　　Location: 4.2.2.4.7　　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Metabolism of [^{14}C]PMPA in Human and Animal Tissues

Study Systems	Study system 1: rat hepatic microsomal fraction from control animals or following treatment with the general inducer Aroclor 1254. Study system 2: plasma, intestinal S9 and hepatic S9 from human and dog.

	***In Vitro* Half life (min) (% TFV remaining following 60 min incubation at 37°C)**			
	Liver microsomes / S9	**Aroclor Hepatic Microsomal Fraction**	**Plasma**	**Intestinal S9**
Rat	> 60 (117%) [a]	> 60 (93%) [a]	-	-
Rat (+ NADPH)	> 60 (111%) [a]	> 60 (99%) [a]	-	-
Dog	> 60 (92%) [b]	-	> 60 (98%) [b]	> 60 (110%) [b]
Human	> 60 (108%) [b]	-	> 60 (111%) [b]	> 60 (116%) [b]
Additional Information:	No metabolites were detected.			

a　Data from study system 1
b　Data from study system 2

2.6.5.10　A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*

マウスでの TAF の代謝

Report Number: AD-120-2012　　Location: 4.2.2.4.8　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Methods:	
Species	CD-1 mice
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/30
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.25, 1, 2, 12, 24 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Plasma
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

Final Metabolite Designation	**Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**					**AUC_{0-24h} (ng eq•h/g)**	**% AUC of Total Radioactivity**
	0.25 h	**1 h**	**2 h**	**12 h**	**24 h**		
M27A (Allantoin)	549	420	1820	143	121	10530	12.2
M27B (Uric acid)	259	1150	1420	390	371	16670	19.4
M5	1050	239	277	73.4	ND	2411	2.80
M6	280	86.4	160	ND	ND	NA	NA
M28	1690	425	169	ND	ND	878	1.02
M12	13600	4740	5030	1340	385	47167	54.8
M45	2260	667	354	ND	ND	3177	3.69
M46	2740	688	326	ND	ND	2738	3.18
M18	ND	ND	201	ND	ND	NA	NA

2.6.5.10 A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Final Metabolite Designation	Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)					AUC_{0-24h} (ng eq•h/g)	% AUC of Total Radioactivity
	0.25 h	1 h	2 h	12 h	24 h		
M47	ND	ND	166	ND	ND	NA	NA
M19	332	20.9	765	ND	ND	1533	1.78
M23	ND	ND	125	ND	ND	NA	NA

NA = not applicable; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run and 10 cpm peak height); TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10　A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Species	CD-1 mice
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/4
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine and feces: 0-24, 24-48, 48-72 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Urine (% Radioactive Dose)				**Feces (% Radioactive Dose)**			
	Collection Interval (h)				**Collection Interval (h)**			
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**Total**	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**Total**
M27A (Allantoin)	1.56	0.70	0.32	2.57	0.42	ND	0.02	0.43
M5	1.91	0.23	0.02	2.16	NA	NA	NA	NA
M12	13.0	4.12	0.99	18.1	25.3	4.14	1.26	30.7
M28	NA	NA	NA	NA	0.67	ND	ND	0.67
M32	0.36	ND	ND	0.36	NA	NA	NA	NA
M35	0.66	ND	ND	0.66	NA	NA	NA	NA

NA = not applicable; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run and 10 cpm peak height); TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10　A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Species	CD-1 mice
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/30
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 24, 48 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Kidney Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)			**Liver Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)**		
	Collection Time (h)			**Collection Time (h)**		
Final Metabolite Designation	**1**	**24**	**48**	**1**	**24**	**48**
M27A (Allantoin)	NA	NA	NA	107000	63800	35900
M27B (Uric acid)	4250	3050	2180	NA	NA	NA
M7 (Xanthine)	2830	2070	2460	NA	NA	NA
M8 (Hypoxanthine)	1010	731	1190	NA	NA	NA
M12	90300	18000	4620	356000	93200	18500

NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10　A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Species	CD-1 mice
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/30
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	1, 4, 12, 24, 48 h
Dose (mg/kg)	100
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Nasal turbinate Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)				
	Collection Time (h)				
Final Metabolite Designation	**1**	**4**	**12**	**24**	**48**
M1	392	214	250	325	399
M2	794	326	364	ND	ND
M5	ND	ND	ND	90.6	ND
M7 (Xanthine)	953	ND	ND	46.8	ND
M8 (Hypoxanthine)	254	121	342	298	373
M29	2060	737	599	254	ND
M30	159	ND	164	213	136
M34	ND	ND	ND	70.1	106

ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (12 cpm peak height).; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10 A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Study Systems	[^{14}C]GS-7340 (5 µmol/L) was incubated at 37°C with either pooled plasma or hepatic microsomes (with 1 mmol/L NADPH) from male CD-1 mice for 0 and 60 minutes. The extracted samples were analyzed by HPLC with in-line radioactivity detection to determine the metabolite profiles.

Final Metabolite Designation	**Plasma**		**Hepatic Microsomes (1 mg/mL protein)**	
	Percent of Radioactivity Injected (% of Run)		**Percent of Radioactivity Injected (% of Run)**	
	0 minute	**60 minute**	**0 minute**	**60 minute**
[^{14}C]M1	NA	NA	ND	0.77
[^{14}C]M2	ND	43.0[a]	3.00[a]	11.1[a]
[^{14}C]M5	NA	NA	ND	ND
[^{14}C]M6	NA	NA	ND	ND
[^{14}C]M28	ND	46.0	2.24	3.98
[^{14}C]M29	NA	NA	ND	0.72
[^{14}C]M30	NA	NA	ND	0.82
[^{14}C]M31	NA	NA	ND	0.35
[^{14}C]M32	ND	5.70	NA	NA
[^{14}C]M33 ([^{14}C]Adenine)	NA	NA	ND	41.0
[^{14}C]M18	43.6	0.87	1.63	0.89
[^{14}C]M20	28.5	ND	ND	ND
[^{14}C]M36	NA	NA	3.35	1.38
[^{14}C]M37	NA	NA	ND	0.70
[^{14}C]M38	NA	NA	ND	3.08
[^{14}C]M39	NA	NA	ND	1.87
[^{14}C]M40	NA	NA	ND	2.96

2.6.5.10　A 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

マウスでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2012　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Feces, Kidney, Liver, and Nasal Turbinate Samples from Mice after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340 and Stability of [^{14}C]GS-7340 *in vitro* using CD-1 Mouse Hepatic Microsomes and Plasma

Study Systems	[^{14}C]GS-7340 (5 μmol/L) was incubated at 37°C with either pooled plasma or hepatic microsomes (with 1 mmol/L NADPH) from male CD-1 mice for 0 and 60 minutes. The extracted samples were analyzed by HPLC with in-line radioactivity detection to determine the metabolite profiles.

Final Metabolite Designation	**Plasma**		**Hepatic Microsomes (1 mg/mL protein)**	
	Percent of Radioactivity Injected (% of Run)		**Percent of Radioactivity Injected (% of Run)**	
	0 minute	**60 minute**	**0 minute**	**60 minute**
[^{14}C]M41	NA	NA	ND	0.41
[^{14}C]M42	NA	NA	ND	0.50
[^{14}C]TAF	24.1	ND	84.1	16.3

NA = not applicable; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation; TAF = tenofovir alafenamide

a　It appears that M2 (^{14}C-M2) was a chromatographic artifact due to overload of the column, and it is not a true metabolite.

2.6.5.10　B 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

ラットでの TAF の代謝

Report Number: AD-120-2021　　Location: 4.2.2.4.9　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, and Feces Samples from Rats after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Sprague-Dawley rats
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/15
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Plasma
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

Final Metabolite Designation	**Plasma Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**						**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng eq•h/g)**	**% AUC of Total Radioactivity**
	0.25 h	**0.5 h**	**1 h**	**2 h**	**12 h**	**24 h**		
M27A (Allantoin)	425	259	42.4	8.55	ND	ND	634	23.2
M28	221	135	15.0	ND	ND	ND	159	5.80
M12	246	264	99.7	58.8	19.4	ND	1153	66.7

ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run and 10 cpm peak height); TAF = tenofovir alafenamide; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from 0.25 hours (first time point referred to as zero point) to the last measurable time point (24 hours postdose).

2.6.5.10　B 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

ラットでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2021　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, and Feces Samples from Rats after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Sprague-Dawley rats
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-24 h, Feces: 0-24 and 24-48 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Urine, feces
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Urine (Percent of Radioactive Dose)	**Feces (Percent of Radioactive Dose)**		
	Collection Interval (h)	**Collection Interval (h)**		
Final Metabolite Designation	**0-24**	**0-24**	**24-48**	**Total**
M27A (Allantoin)	0.14	NA	NA	NA
M44	1.41	NA	NA	NA
M28	ND	NA	NA	NA
M12	17.1	59.8	3.56	63.3
M32	0.19	NA	NA	NA

NA = not applicable; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10　B 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

ラットでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2021　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, and Feces Samples from Rats after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Bile Duct-Cannulated Sprague-Dawley rats
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-24 h, Bile: 0-4 h, Feces: 0-24 and 24-48 h
Dose (mg/kg)	5
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Urine (Percent of Radioactive Dose)	**Bile (Percent of Radioactive Dose)**	**Feces (Percent of Radioactive Dose)**		
	Collection Interval (h)		**Collection Interval (h)**		
Final Metabolite Designation	**0-24**	**0-4**	**0-24**	**24-48**	**Total**
M27A (Allantoin)	0.23	NA	NA	NA	NA
M27B (Uric acid)	NA	0.02	NA	NA	NA
M44	1.38	NA	NA	NA	NA
M28	0.38	1.17	NA	NA	NA
M12	17.1	0.67	49.3	12.4	61.7
M32	0.30	NA	NA	NA	NA

NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝

Report Number: AD-120-2008　　Location: 4.2.2.4.10　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0.25, 0.5, 2, 4, 12, 24 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Not fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Plasma
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

Final Metabolite Designation	**Plasma Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**						**AUC_{0-t} (ng eq•h/g)**	**% AUC of Total Radioactivity**
	0.25 h	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**12 h**	**24 h**		
M2	ND	45.7	58.5	69.1	ND	30.4	1212	7.61
M3	ND	49.0	85.2	67.3	ND	ND	265	1.67
M5	ND	ND	36.9	ND	ND	ND	36.9	0.23
M9	ND	ND	22.2	20.8	ND	ND	65.2	0.41
M10	ND	ND	23.7	ND	ND	ND	23.7	0.15
M12	2760	2070	1050	541	278	175	10874	68.3
M17	213	132	ND	ND	ND	ND	69.8	0.44
M18	4640	1840	38.4	ND	ND	ND	2799	17.6

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Final Metabolite Designation	**Plasma Concentrations (ng Equivalents [^{14}C]-TAF/g)**						**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng eq•h/g)**	**% AUC of Total Radioactivity**
	0.25 h	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**12 h**	**24 h**		
M20	92.4	76.3	ND	ND	ND	ND	32.6	0.20
TAF	616	420	ND	ND	ND	ND	207	1.30

ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run); TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0-24, 24-48, 48-72, 72-96 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Urine
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Urine (Percent of Radioactive Dose)				
	Collection Interval (h)				
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**72-96**	**Total**
M1	ND	ND	ND	ND	ND
M2	0.88	0.28	0.16	0.19	1.49
M4	0.69	0.06	0.03	0.02	0.79
M5	0.47	ND	ND	ND	0.47
M11	0.43	ND	ND	ND	0.43
M12	13.3	5.08	3.43	2.35	24.2
M15	0.22	0.02	ND	ND	0.23
M18	ND	0.12	0.07	0.04	0.23

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

	Urine (Percent of Radioactive Dose)				
	Collection Interval (h)				
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**72-96**	**Total**
M23	ND	ND	ND	ND	ND
TAF	1.32	ND	ND	ND	1.32

TAF = tenofovir alafenamide; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run)

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Bile Duct-Cannulated Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0-24, 24-48, 48-72, 72-96 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Urine
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Urine (Percent of Radioactive Dose)				
	Collection Interval (h)				
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**72-96**	**Total**
M1	0.12	0.04	0.04	ND	0.19
M2	1.06	0.35	0.14	0.15	1.70
M4	0.36	0.06	0.05	ND	0.48
M5	0.32	0.06	0.03	0.04	0.44
M11	0.39	0.04	ND	ND	0.42
M12	8.97	3.75	2.41	1.68	16.8
M15	ND	ND	ND	ND	ND
M18	ND	ND	ND	ND	ND

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

	Urine (Percent of Radioactive Dose)				
	Collection Interval (h)				
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**48-72**	**72-96**	**Total**
M23	0.24	ND	ND	ND	0.24
TAF	1.30	ND	ND	ND	1.30

TAF = tenofovir alafenamide; ND = peak was not detected or below the established limit of quantitation (1% of run)

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Bile Duct-Cannulated Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0-2, 2-4, 4-6 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Bile (Percent of Radioactive Dose)			
	Collection Interval (h)			
Final Metabolite Designation	**0-2**	**2-4**	**4-6**	**Total**
M2	0.08	0.02	0.02	0.12
M4	0.23	0.05	0.04	0.32
M5	0.23	0.10	0.10	0.43
M6	0.07	0.02	0.01	0.10
M11	0.04	0.02	0.03	0.09
M12	0.42	0.23	0.32	0.96
M14	0.10	0.06	0.06	0.22
M16	2.72	0.84	0.82	4.38
M17	0.29	0.09	0.10	0.48
M18	2.07	0.64	0.66	3.37
M19	0.01	0.04	0.04	0.09

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

	Bile (Percent of Radioactive Dose)			
	Collection Interval (h)			
Final Metabolite Designation	**0-2**	**2-4**	**4-6**	**Total**
M21	0.14	0.13	0.11	0.38
M22	0.07	0.09	0.07	0.23
M23	0.02	0.15	0.08	0.24
TAF	0.06	0.09	0.05	0.19

TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008 Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/6
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	0-24, 24-48 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Feces
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Intact Dog (Feces, Percent of Radioactive Dose)			**BDC Dog (Feces, Percent of Radioactive Dose)**		
	Collection Interval (h)			**Collection Interval (h)**		
Final Metabolite Designation	**0-24**	**24-48**	**Total**	**0-24**	**24-48**	**Total**
M2	0.21	0.04	0.25	ND	ND	ND
M11	0.35	ND	0.35	0.50	0.20	0.70
M12	18.3	2.49	20.8	16.0	10.4	26.4

TAF = tenofovir alafenamide; ND = Peak not detected or below the established limit of quantitation (1% of run); BDC = bile duct-cannulated

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/20
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	2, 24 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Bone
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Single Dose		**Multiple Dose**	
	Bone Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)			
	Collection Time (h)			
Final Metabolite Designation	**2**	**24**	**2**	**24**
M2	ND	ND	52.9	ND
M6	ND	ND	45.1	ND
M12	2190	1070	4000	2820

TAF = tenofovir alafenamide; ND = peak not detected or below the established limit of quantitation (1% of run)

2.6.5.10　C 薬物動態試験：代謝：*in vivo*（続き）

イヌでの TAF の代謝（続き）

Report Number: AD-120-2008　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Ttitle: Profiling and Identification of Metabolites in Selected Plasma, Urine, Bile, Feces, Bone, and Liver Samples from Dogs after Oral Administration of [^{14}C]GS-7340

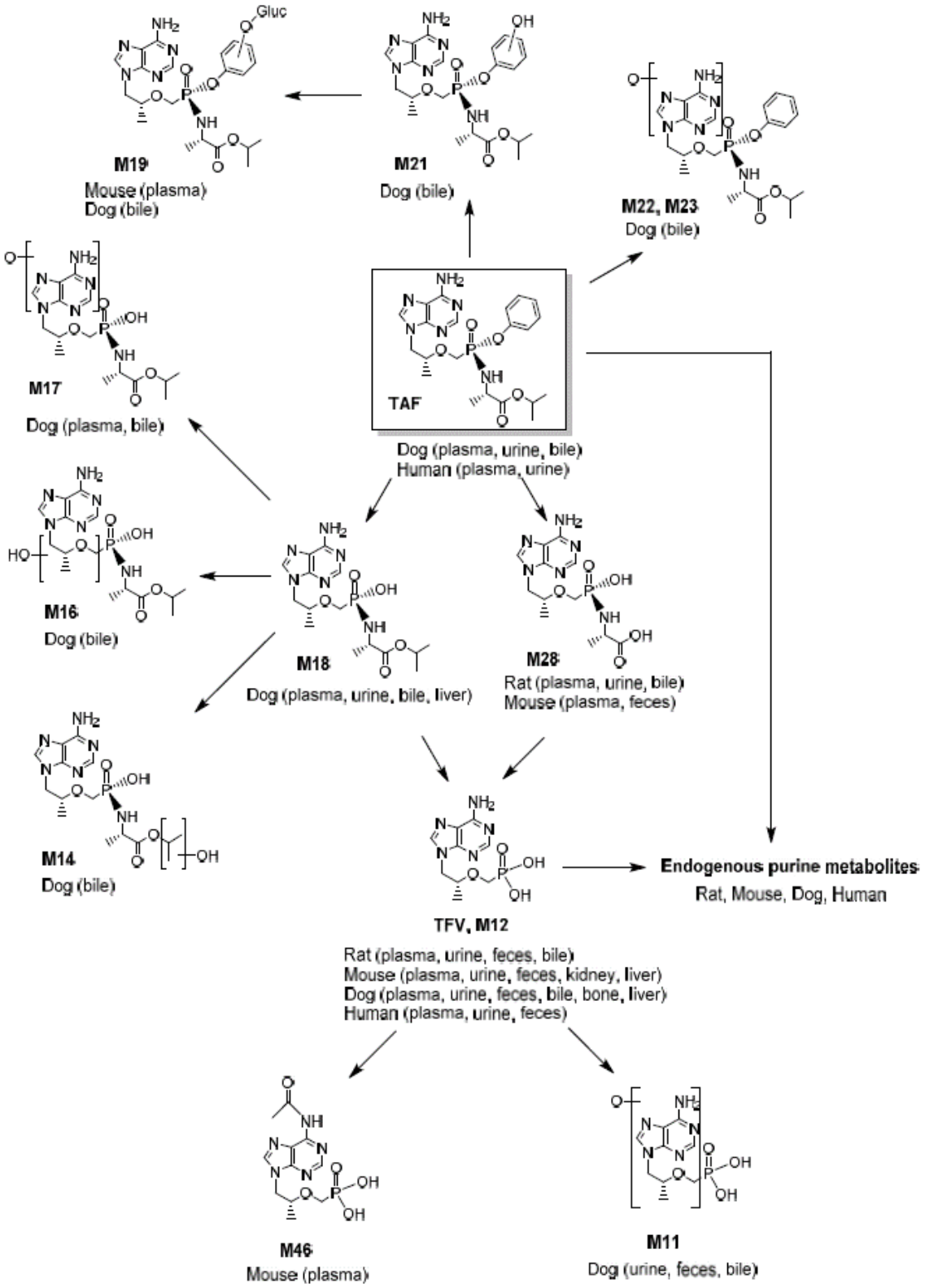
Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	Male/20
Method of Administration:	Oral gavage
Sampling Points	2, 24 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Sample	Liver
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter

	Single Dose		**Multiple Dose**	
	Liver Concentration (ng equivalents [^{14}C]-TAF/g)			
	Collection Time (h)			
Final Metabolite Designation	**2**	**24**	**2**	**24**
M2	3120	1230	4440	2610
M7	3840	1160	ND	3260
M8	7760	2680	11700	7340
M12	58200	43300	68100	49400
M13	ND	336	723	716
M18	1570	1040	556	294

TAF = tenofovir alafenamide; ND = peak not detected or below the established limit of quantitation (1% of run),

2.6.5.11　　薬物動態試験：推定代謝経路

マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]-TAF を単回経口投与後の推定代謝経路を示す。



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。

2.6.5.13　　A 薬物動態試験：排泄

マウスでの排泄

試験番号 AD-120-2011 での排泄試験の結果について 2.6.5.5A 項に記載。

2.6.5.13　　B 薬物動態試験：排泄（続き）

ラットでの排泄

試験番号 AD-120-2020 での排泄試験の結果について 2.6.5.5B 項に記載。

2.6.5.13　C 薬物動態試験：排泄（続き）

ラットでの排泄

Report Title: 96-DDM-1278-001　　Location: 4.2.2.5.1　　Test Article: [^{14}C]-TFV

Report Title: Effect of Dose on Recovery of [^{14}C]PMPA Following Intravenous Administration to Sprague-Dawley Rats

Species	Sprague Dawley Rat			
Sex (M/F) No. of Animals	6M (4M group 1, 2M group 2)			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle / Formulation	Sterile saline or phosphate buffered saline			
Method of Administration	IV single bolus			
Sampling Points	0-4, 4-8, 8-12, 12-24 and 24 h-intervals through 168 h			
Dose (mg/kg/day)	10 (group 1), 50 (group 2)			
Analyte (Radionuclide)	Total radioactivity, % recovery ^{14}C			
Specific Activity	400 µCi/kg			
Assay	Liquid scintillation counting			
	10 mg/kg			
Excretion Route	**Urine (+ cage wash) (% dose in sample)**	**Feces (% dose in sample)**	**% Total recovery**	
Time			**Urine**	**Feces**
0–24 h	85.2	3.18	92.8	4.48
24–168 h	7.6	1.30		
	50 mg/kg			
0–24 h	77.5	7.39	84.0	8.46
24–168 h	6.6	1.07		

2.6.5.13　D 薬物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄

Report Number: AD-120-2007　　Location: 4.2.2.5.2　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Intact and Bile Duct-Cannulated Dogs

Species	Beagle dogs	
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3	
Method of Administration	Oral gavage	
Sampling Points	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 168 h	
Dose (mg/kg)	15	
Feeding Condition	Fasted	
Specific Activity	10 µCi/mg	
Radionuclide	Carbon-14	
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)	
Analyte/Assay	[^{14}C]-TAF/Liquid Scintillation Counter	
Tabulated PK Results		
Sample Type	**Plasma**	**Blood**
T_{max} (h)	0.25 ± 0.00	0.25 ± 0.00
C_{max} (ng eq/g)	8830 ± 774	7320 ± 895
$t_{½}$ (h)	30.8 ± 4.34	107 ± 30.0
AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	18500 ± 2020	44600 ± 11900

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.13　D 物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄（続き）

Report Number: AD-120-2007　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Intact and Bile Duct-Cannulated Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-8, 8-24 and 24 h intervals through 168 h, Feces: 24 h intervals through 168 h, Cage rinse: 24 h intervals through 144 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/ Liquid Scintillation Counter

	Percent of Radioactive Dose (%)			
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total**
0-8 h	10.2 ± 4.17	NA	NA	10.2 ± 4.17
0-24 h	18.6 ± 4.23	29.5 ± 7.03	2.46 ± 2.33	50.6 ± 6.40
0-48 h	24.5 ± 4.30	35.0 ± 2.58	3.69 ± 2.72	63.2 ± 2.78
0-72 h	28.4 ± 4.41	35.9 ± 2.55	4.63 ± 3.29	68.9 ± 2.21
0-96 h	31.1 ± 4.46	36.4 ± 2.46	5.28 ± 3.34	72.8 ± 2.09
0-120 h	33.1 ± 4.56	36.9 ± 2.34	5.82 ± 3.48	75.8 ± 1.85
0-144 h	34.6 ± 4.63	37.2 ± 2.29	6.26 ± 3.44	78.1 ± 1.97
0-168 h	35.9 ± 4.69	37.4 ± 2.21	NA	73.3 ± 5.27

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable

2.6.5.13　D 薬物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄（続き）

Report Number: AD-120-2007　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Intact and Bile Duct-Cannulated Dogs

Species	Bile Duct-Cannulated Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3
Method of Administration	Oral gavage
Sampling Points	Urine: 0-4, 4-8, 8-24 h and 24 h intervals through 168 h, Feces: 24 h intervals through 168 h, Cage rinse: 24-hour intervals through 144 h, Bile: 0-1, 1-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-12, 12-24 h and 24 h-intervals through 168 h
Dose (mg/kg)	15
Feeding Condition	Fasted
Radionuclide	Carbon-14
Specific Activity	10 μCi/kg
Vehicle / Formulation	water:hydroxypropylmethylcellulose (HPMC):tween 80 (99.8:0.1:0.1, v:v:v)
Analyte / Assay	[^{14}C]-TAF/ Liquid Scintillation Counter

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)				
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Bile**	**Total**
0-1 h	NA	NA	NA	2.94 ± 2.56	2.94 ± 2.56
0-2 h	NA	NA	NA	6.80 ± 4.14	6.80 ± 4.14
0-4 h	1.72 ± 2.98	NA	NA	9.48 ± 2.24	11.2 ± 5.13
0-6 h	NA	NA	NA	12.2 ± 2.45	12.2 ± 2.43
0-8 h	8.25 ± 0.90	NA	NA	12.4 ± 2.53	20.6 ± 3.30
0-12 h	NA	NA	NA	12.5 ± 2.58	12.5 ± 2.58
0-24 h	13.9 ± 1.24	22.8 ± 19.6	0.77 ± 0.12	12.9 ± 2.70	50.3 ± 22.5
0-48 h	18.3 ± 1.50	40.8 ± 2.91	1.45 ± 0.38	13.3 ± 2.90	73.9 ± 0.90
0-72 h	21.0 ± 1.90	42.2 ± 3.61	1.81 ± 0.60	13.7 ± 3.04	78.7 ± 0.83

2.6.5.13　D 薬物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄（続き）

Report Number: AD-120-2007　　Test Article: [^{14}C]-TAF

Report Title: Pharmacokinetics, Absorption, and Excretion of [^{14}C]GS-7340 Following Oral Administration to Intact and Bile Duct-Cannulated Dogs

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)				
Time Point	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Bile**	**Total**
0-96 h	22.9 ± 1.84	42.4 ± 3.64	2.05 ± 0.63	13.8 ± 3.11	81.2 ± 0.49
0-120 h	24.5 ± 2.14	42.5 ± 3.58	2.25 ± 0.62	14.0 ± 3.16	83.3 ± 0.81
0-144 h	25.5 ± 2.29	42.6 ± 3.63	2.42 ± 0.62	14.0 ± 3.21	84.6 ± 1.02
0-168 h	26.5 ± 2.44	42.7 ± 3.64	NA	14.0 ± 3.21	83.3 ± 1.77

F = female; M = male; TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable

2.6.5.13　E 薬物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄

Report Number: 96-DDM-1278-002　　Location: 4.2.2.5.3　　Test Article: [^{14}C]-TFV

Report Title: A Pilot Study of Biliary Excretion of [^{14}C]PMPA in the Beagle Dog

Species	BDC Beagle Dog				
Sex (M/F) No. of Animals	1M				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle / Formulation	aqueous solution				
Method of Administration	IV Bolus, single administration				
Sampling Points	0-4, 4-8, 8-12, 12-24, 24-48 h				
Dose (mg/kg)	10				
Radionuclide	Carbon-14				
Specific Activity	50 µCi/kg				
Analyte / Assay	[^{14}C]-TFV/ Liquid Scintillation Counter				
Excretion Route	**Urine (% dose)**	**Feces (% dose)**	**Bile (% dose)**	**Cage wash (% dose)**	**Total (% dose)**
Time					
0–48 h	70.0	0.42	0.26	5.68	76.4

BDC = bile duct-cannulated; F = female; M = male; TFV = tenofovir

2.6.5.14　　A 薬物動態試験：排泄：胆汁中

ラットでの胆汁中排泄

AD-120-2020 試験で実施したラット胆汁中排泄試験の結果は 2.6.5.5B 項に記載。

2.6.5.14　　B 薬物動態試験：排泄：胆汁中（続き）

イヌでの胆汁中排泄

AD-120-2007 試験及び 96-DDM-1278-002 試験で実施したイヌ胆汁中排泄試験の結果は 2.6.5.13C 項及び 2.6.5.13D 項に記載。

2.6.5.15　A 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験

TAF の CYP 阻害作用

Report Number: AD-120-2003　　Location: 4.2.2.6.1　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Assessment of Human Liver Cytochrome P450 Inhibition Potential of GS-7340

Methods	The inhibitory effect of TAF on human P450 enzymes (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A) was investigated using human liver microsomes in the presence of NADPH at concentrations of TAF up to 25 µmol/L.		
		Calculated IC_{50} (µmol/L) (Mean, n=6)	
Enzyme	**Activity**	**TAF**	**Control Inhibitor[a]**
CYP1A2	Phenacetin O-deethylase	>25	0.05
CYP2B6	Bupropion 4-hydroxylase	>25	0.72
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylase	>25	0.34
CYP2C9	Tolbutamide 4-hydroxylase	>25	0.64
CYP2C19	(S) Mephenytoin 4'-hydroxylase	>25	7.65
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylase	>25	0.05
CYP3A	Midazolam 1'-hydroxylase	7.6	0.03
	Testosterone 6β-hydroxylase	7.4	0.11

CYP = cytochrome P450 enzyme; TAF = tenofovir alafenamide

a　Control inhibitors: CYP1A2, α-Naphthoflavone (0-3 µmol/L); CYP2B6, Ticlopidine (0-10 µmol/L); CYP2C8, Montelukast (0-3 µmol/L); CYP2C9, Sulfaphenazole (0-10 µmol/L); CYP2C19, Tranylcypromine (0-50 µmol/L); CYP2D6, Quinidine (0-3 µmol/L); CYP3A, Ketoconazole (0-3 µmol/L)

2.6.5.15　B 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の時間依存的阻害作用

Report Nmber: AD-120-2040　　Location: 4.2.2.6.2　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Assessment of Human Hepatic Microsomal Cytochrome P450 Mechanism-Based Inhibition Potential of GS-7340

Methods	The potential for test compound to act as a mechanism based inhibitor of human hepatic microsomal cytochromes P450 drug metabolizing enzymes, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A, was assessed. Two-stage incubation protocol was used, with the first stage allowing inactivation of the enzyme in the absence of substrate, and the second stage being used to assay remaining enzyme activity. A 10-fold dilution was performed between the 2 stages to reduce the direct inhibitory effects of the test compounds. The enzyme-specific metabolites were quantified by LC MS/MS, except for resorufin (CYP1A2 metabolite), which was quantified fluorometrically.

CYP Enzyme	**Probe Activity**	**Calculated % Change (Mean ± SD)**	
		Control Inhibitor[a]	**TAF**
CYP1A2	Ethoxyresorufin O-deethylase	71.2 ± 1.9	-5.61 ± 9.16
		57.9 ± 3.1	
CYP2B6	Bupropion 4-hydroxylase	85.4 ± 0.8	-5.29 ± 3.52
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylase	60.3 ± 4.8	17.4 ± 14.2
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylase	79.6 ± 2.5	-7.36 ± 17.2
CYP2C19	S-Mephenytoin 4’-hydroxylase	62.3 ± 0.9	5.30 ± 4.10
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylase	80.1 ± 3.6	3.94 ± 16.1
CYP3A	Midazolam 1’-hydroxylase	60.1 ± 1.8	16.4 ± 5.87
		80.2 ± 1.2	
	Testosterone 6β-hydroxylase	91.3 ± 0.5	10.3 ± 4.66
		70.7 ± 1.2	

CYP = cytochrome P450 enzyme; SD = standard deviation; TAF = tenofovir alafenamide
a　CYP1A2, furafylline and resveratrol; CYP2B6, ticlopidine; CYP2C8, gemfibrozil glucuronide; CYP2C9, tienilic acid; CYP2C19, ticlopidine; CYP2D6, paroxetine; CYP3A, mibefradil and mifepristone.
Assay were performed in duplicate.

2.6.5.15　C 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV の CYP 阻害作用

Report Number: V990172-104　　Location: 4.2.2.6.3　　Test Article: TFV

Report Title: The Effect of Tenofovir and Tenofovir DF on the Activities of the Cytochrome P-450 Isoforms in Human Hepatic Microsomes

Method	Probe activities selective for the CYP enzymes were utilized to examine the potential inhibitory effects of TFV using human hepatic microsomal fraction as the catalyst. Activities were evaluated in the presence and absence of 100 μmol/L TFV.

CYP Enzyme (activity)	**Control (nmol/mg/min)**	**TFV (nmol/mg/min)**
CYP3A (terfenadine hydroxylation)	0.018 ± 0.009	0.016 ± 0.009
CYP2D6 (dextromethorphan O-demethylation)	0.066 ± 0.041	0.064 ± 0.043
CYP2C9 (tolbutamide 4-hydroxylation)	0.218 ± 0.093	0.216 ± 0.096
CYP2E1 (chlorzoxazone 6-hydroxylation)	1.48 ± 0.58	1.50 ± 0.65
CYP1A2 (7-ethoxycoumarin O-deethylation)	0.481 ± 0.182	0.487 ± 0.19

CYP = cytochrome P450 enzyme; SD = standard deviation; TFV = tenofovir
n = 3–4, Dara are represented as mean ± SD.

2.6.5.15　D 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の UGT1A1 阻害作用

Report Number: AD-120-2006　　Location: 4.2.2.6.4　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Assessment of Human UGT1A1 Inhibition Potential of GS-7340

Methods	The potential for TAF to inhibit the catalytic activity of human UGT1A1 was assessed. The rates of formation of β-estradiol-3-glucuronide from estradiol substrate (10 µmol/L) by hepatic microsomal fractions were determined in the presence and absence of TAF (up to 50 µmol/L), and, where possible, IC_{50} values were determined. Silybin was used as positive control.

		Calculated IC_{50} (µmol/L)	
Enzyme	**Activity**	**TAF**	**Silybin**
UGT1A1	β-estradiol-3-glucuronidation	>50	1.69

TAF = tenofovir alafenamide; UGT = uridine diphosphate glucuronosyl transferase

2.6.5.15　E 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の代謝酵素誘導

Report Number: AD-120-2005　Location: 4.2.2.6.5　Test Article: TAF

Report Title: In Vitro Assessment of Induction Potential of GS-7340 in Humans

Methods	Assessments of induction were done using Puracyp's hepatoma-derived cell line DPX2. DPX2 cells are stably transformed with an expression vector for human PXR and a reporter gene vector containing the enhancer regions of CYP3A4 linked to luciferase. Following 24 hours of exposure to the test articles, the luciferase substrate was added and the luminescence was read in a luminometer. The average luminescent units for the 3 replicates were divided by the average for the DMSO solvent control to determine the fold induction

	Fold Induction Over 0.1% DMSO Control (PXR Activation)	
Concentration	**TAF**	**Rifampicin**
0.1 µmol/L	NA	1.56
0.15 µmol/L	0.81	NA
0.5 µmol/L	0.92	4.59
1.0 µmol/L	NA	6.36
1.5 µmol/L	0.88	NA
5 µmol/L	1.03	12.5
10 µmol/L	NA	13.4
15 µmol/L	1.58	NA
20 µmol/L	NA	12.6
50 µmol/L	3.89	NA

TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable

2.6.5.15　E 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の代謝酵素誘導（続き）

Report Number: AD-120-2005　　Test Article: TAF

Report Title: In Vitro Assessment of Induction Potential of GS-7340 in Humans

	Fold Induction Over 0.1% DMSO Control (AhR Activation)	
Concentration	**TAF**	**β-Naphthoflavone**
0.1 µmol/L	NA	2.56
0.15 µmol/L	1.09	NA
0.5 µmol/L	1.04	6.37
1.0 µmol/L	NA	11.1
1.5 µmol/L	0.97	NA
5 µmol/L	0.91	47.5
10 µmol/L	NA	40.0
15 µmol/L	0.87	NA
20 µmol/L	NA	27.7
50 µmol/L	0.90	NA

TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable

2.6.5.15　F 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

ヒト肝細胞を用いた TAF の誘導作用の検討

Report Number: AD-120-2032　　Location: 4.2.2.6.6　　Test Article: TAF

Repoty Title: Evaluation of Induction Potential of GS-7340 in Cultured Human Hepatocytes

Methods	The induction potential of cytochrome P450 (CYP) isoforms, P-glycoprotein (P-gp), and UDP glucuronosyl transferase (UGT) 1A1 by TAF was assessed in cultured human hepatocytes. TAF was incubated in 3 preparations of cryopreserved human hepatocyte cultures at concentrations of 1, 10, and 100 µmol/L with vehicle control and appropriate positive controls. Following 3 days of exposure, induction was determined in *situ* by catalytic activity assays, and mRNA expression was determined using real-time PCR (RT-PCR). Additionally, the cytotoxic potential of TAF was assessed using the MTT assay.

TAF Concentration (µmol/L)	**Fold Induction (Mean ± SD from 3 donors)**							
	mRNA Expression in Human Hepatocytes					**Activity in Human Hepatocytes**		
	CYP1A2	**CYP2B6**	**CYP3A4**	**P-gp**	**UGT1A1**	**CYP1A2**	**CYP2B6**	**CYP3A**
1	1.2 ± 0.14	0.95 ± 0.17	0.92 ± 0.098	1.0 ± 0.037	0.94 ± 0.074	1.0 ± 0.20	1.1 ± 0.047	0.97 ± 0.083
10	3.0 ± 0.47	1.6 ± 0.26	8.3 ± 1.4	1.1 ± 0.11	1.7 ± 0.15	1.4 ± 0.15	0.85 ± 0.085	0.99 ± 0.057
100	6.9 ± 0.86	2.5 ± 0.21	44 ± 3.6	0.87 ± 0.093	3.9 ± 0.47	0.84 ± 0.065	0.42 ± 0.095	0.37 ± 0.025

SD = standard deciation; TAF = tenofovir alafenamide; MTT = 3-[4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl]-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide
Note: Positive control for CYP1A2 was omeprazole, for CYP2B6 and P-gp was phenobarbital, for CYP3A was rifampicin, and for UGT1A1 was β-naphthoflavone.
The probe substrates for an assessment of activity: Phenacetin (100 µmol/L) for CYP1A2, Bupropion (250 µmol/L) for CYP2B6, Testosterone (200 µmol/L) for CYP3A4

2.6.5.15　F 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

ヒト肝細胞を用いた TAF の誘導作用の検討（続き）

Report Number: AD-120-2032　　Test Article: TAF

Repoty Title: Evaluation of Induction Potential of GS-7340 in Cultured Human Hepatocytes

Methods	The induction potential of cytochrome P450 (CYP) isoforms, P-glycoprotein (P-gp), and UDP glucuronosyl transferase (UGT) 1A1 by TAF was assessed in cultured human hepatocytes. TAF was incubated in 3 preparations of cryopreserved human hepatocyte cultures at concentrations of 1, 10, and 100 µmol/L with vehicle control and appropriate positive controls. Following 3 days of exposure, induction was determined in *situ* by catalytic activity assays, and mRNA expression was determined using real-time PCR (RT-PCR). Additionally, the cytotoxic potential of TAF was assessed using the MTT assay.

TAF Concentration (µmol/L)	**Cell Viability (% Control Incubations)[a]**			
	Hepatocyte Lot 228	**Hepatocyte Lot 307**	**Hepatocyte Lot 321**	**Mean**
0	100 ± 6	100 ± 14	100 ± 7	100 ± 9
1	104 ± 3	120 ± 10	104 ± 6	109 ± 6
10	58 ± 2	90 ± 13	81 ± 2	76 ± 6
100	47 ± 1	73 ± 8	54 ± 2	58 ± 4

TAF = tenofovir alafenamide; MTT = 3-[4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl]-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide

a　Values are the mean ± standard deviation of triplicate determinations and represent percentage viability relative to solvent vehicle-only treated cells

2.6.5.15　G 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

ヒト肝細胞における CatA、CES1 及び CYP3A 阻害剤の TAF 代謝への影響

Report Number: AD-120-2031　　Location: 4.2.2.6.7　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of Inhibitors of Cathepsin A, Carboxylesterase 1, and CYP3A4 on Metabolism of Tenofovir Alafenamide Fumarate (GS-7340) in Primary Human Hepatocytes

Methods	The effect of inhibitors of cathepsin A (CatA), carboxylesterase 1 (CES1), and CYP3A on TAF activation to the pharmacologically active nucleotide analog diphosphate, tenofovir diphosphate (TFV-DP), was assessed in primary human hepatocytes. The duplicate wells were incubated with 0.5 µmol/L TAF in the presence and absence of the inhibitors (concentrations at 0, 0.08, 0.4, 2, 10, and 50 µmol/L). The amount of TFV-DP formation was analyzed by LC/MS/MS.

Inhibitor Concentration (µmol/L)	**Intracellular TFV-DP (% Control) (Mean)**				
	Telaprevir	**Boceprevir**	**BNPP**	**COBI**	**Telaprevir + BNPP**
0	100	100	100	100	100
0.08	109	91.2	124	123	132
0.4	93.8	91.1	94.1	98.3	103
2	103	91.7	63.4	100	51.9
10	106	87.2	70.2	88.2	16.1
50	984	100	33.6	87.9	5.30

COBI = cobicistat CYP = cytochrome P450 enzyme; TAF = tenofovir alafenamide; TFV-DP = tenofovir diphosphate; BNPP = bis(p-nitrophenyl) phosphate;
Note: Telaprevir and boceprevir are CatA inhibitors; COBI is a CYP3A inhibitor; BNPP is a CES1 inhibitor
Data are based on duplicate experiments in primary human hepatocytes from three different donors.

2.6.5.15　H 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF が P-gp 及び BCRP の基質であるかどうかの検討

Report Number: AD-120-2018　　Location: 4.2.2.6.8　　Test Article: TAF

Report Title: Bidirectional Permeability of GS-7340 Through Monolayers of P-glycoprotein and BCRP Over-expressing Cells

Methods	The potential for TAF to act as a substrate for P-gp (MDR1) and BCRP was tested in monolayers of either wild type, MDR1-transfected or BCRP-transfected Madin-Darby canine kidney (MDCK II) cells (MDCK II-WT, MDCK II-MDR1 and MDCK II-BCRP, respectively). The effects of transporter-selective inhibitors were also assessed.

Wild Type and MDR1 Transfected MDCKII Cells

Cell Type	Direction	Initial Conc. (µmol/L)	Recovery (%)	P_{app} (x 10^{-6} cm/s)			Efflux Ratio
				R1	R2	Average	
MDCK II-WT	Cell-Free	7.9	112	45.7	NA	45.7	NA
	Forward	7.9	103	1.4	1.5	1.5	4.8
	Reverse	7.6	99	6.7	7.4	7.1	
MDCK II-MDR1	Forward	7.4	92	0.1	0.3	0.2	66.2
	Reverse	7.7	96	12.8	11.3	12.1	
MDCK II-MDR1 (10 µmol/L Cyclosporin A)	Forward	9.4	91	1.3	1.2	1.3	5.6
	Reverse	8.4	90	6.8	7.4	7.1	

BCRP = breast cancer resistance protein; TAF = tenofovir alafenamide; MDR1 = P-glycoprotein (P-gp, ABCB1); NA = not applicable

2.6.5.15　H 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF が P-gp 及び BCRP の基質であるかどうかの検討（続き）

Report Number: AD-120-2018　　Test Article: TAF

Report Title: Bidirectional Permeability of GS-7340 Through Monolayers of P-glycoprotein and BCRP Over-expressing Cells

Wild Type and BCRP Transfected MDCK II Cells

Cell Type	Direction	Initial Conc. (µmol/L)	Recovery (%)	P_{app} (x 10^{-6} cm/s)			Efflux Ratio
				R1	R2	Average	
MDCK II-WT	Cell-Free	7.9	112	45.7	NA	45.7	NA
	Forward	7.9	103	1.4	1.5	1.5	4.8
	Reverse	7.6	99	6.7	7.4	7.1	
MDCK II-BCRP	Forward	7.8	79	2.1	2.2	2.1	6.2
	Reverse	7.8	104	13.5	13.3	13.4	
MDCK II-BCRP (10 µmol/L Ko134)	Forward	8.9	103	3.8	5.8	4.8	1.4
	Reverse	10.3	96	5.9	8.0	6.9	

BCRP = breast cancer resistance protein; TAF = tenofovir alafenamide; NA = not applicable

2.6.5.15　I 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

Caco-2 単層膜細胞を用いた TAF 膜透過性への GS-9350 の影響

Report Number: AD-120-2013　　Location: 4.2.2.6.9　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of GS-9350 on the Bi-Directional Permeability of GS-7340 through Caco-2 Cells

Bidirectional Permeability of TAF Through Caco-2 Cells

Inhibitor	Direction	Target Concentration (µmol/L)	Initial Conc. (µmol/L)	Recovery (%)	P_{app} (10^{-6} cm/s)					Efflux Ratio
					Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Replicate 4	Average	
no inhibitor	Cell-Free	10	9.61	119	31.6	NA	30.1	NA	30.8	NA
	Forward		9.92	64	0.59	0.69	0.82	0.88	0.74	20
	Reverse		8.71	102	18.0	15.1	12.6	14.8	15.1	
GS-9350 (cobicistat)	Forward	10	11.0	101	3.98	3.56	2.47	2.55	3.14	1.6
	Reverse		11.4	115	6.71	6.18	3.33	3.33	4.89	

Caco-2 = human colonic adenocarcinoma cell line; NA = not applicable; TAF = tenofovir alafenamide; P_{app} = apparent permeability

2.6.5.15　J 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

イヌでのシクロスポリン A による阻害作用

Report Number: AD-120-2035　　Location: 4.2.2.6.10　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of Cyclosporin A pretreatment on Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide in Dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3
Method of Administration	Intravenous infusion (30 min.)
Dose (mg/kg)	0.5
Feeding Condition	Fasted
Sample	Plasma/PBMC
Assay	LC/MS/MS

	Plasma (Mean, n=3)		**PBMC (Mean, n=3)**		
			- Phosphatase	**+ Phosphatase**	**–**
Parameter	**TAF**	**TFV**	**TFV**	**TFV**	**TFV-DP**
T_{max} (h)	0.41	0.90	0.48	2.32	6.00
C_{max} (µg/mL)	0.47	0.03	2.96	5.25	7.24
$t_{½}$ (h)	0.12	>24	NC	>24	>24
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	0.23	0.15	12.3	78.7	137
CL (L/h/kg)	2.23	NA	NA	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; NC = not calculable; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate

a　Due to multiple phases of elimination. A long terminal phase was observed for TFV of >24 h in PBMCs.

2.6.5.15　J 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

イヌでのシクロスポリン A による阻害作用（続き）

Report Number: AD-120-2035　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of Cyclosporin A pretreatment on Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide in dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3
Method of Administration	Oral gavage
Dose (mg/kg)	2
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	0.9% sodium chloride in 50 mmol/L ammonium acetate, pH 5.5
Assay	LC/MS/MS

	Plasma (Mean, n=3)		**PBMC (Mean, n=3)**		
			- Phosphatase	**+ Phosphatase**	**–**
	TAF	**TFV**	**TFV**	**TFV**	**TFV-DP**
T_{max} (h)	0.14	0.67	1.00	1.00	8.70
C_{max} (µg/mL)	0.05	0.10	0.12	0.75	1.81
$t_{½}$ (h)	0.21	>24	NC	>24	>24
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	0.01	0.33	NC[a]	10.8	31.2
F%	1.67	NA	NA	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; NC = not calculable; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate

a　Since PBMCs without phosphatase had detectable levels of TFV only at 1 h.

2.6.5.15　J 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

イヌでのシクロスポリン A による阻害作用（続き）

Report Number: AD-120-2035　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of Cyclosporin A pretreatment on Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide in dogs

Species	Beagle dogs
Sex (M/F) / No. of Animals	M/3
Method of Administration	Oral gavage
Dose (mg/kg)	2
Co-administered CsA Dose (mg)	75
Feeding Condition	Fasted
Vehicle / Formulation	50 mmol/L citrate, pH 5
Assay	LC/MS/MS

	Plasma (Pretreated with 75 mg Cyclosporin A) (Mean, n=3)		**PBMC (Pretreated with 75 mg Cyclosporin A) (Mean, n=3)**		
			- Phosphatase	**+ Phosphatase**	**–**
	TAF	**TFV**	**TFV**	**TFV**	**TFV-DP**
T_{max} (h)	0.25	1.00	1.00	1.00	3.00
C_{max} (µg/mL)	0.39	0.05	2.10	4.91	3.15
$t_{½}$ (h)	0.15	>24	>24	>24	>24
AUC_{0-t} (µg•h/mL)	0.15	0.38	9.39	75.8	59.5
F%	16.6	NA	NA	NA	NA

F = female; M = male; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; TAF = tenofovir alafenamide; TFV = tenofovir; TFV-DP = tenofovir diphosphate

2.6.5.15　K 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF が OATP1B1/1B3 の基質であるかどうかの検討

Report Number: AD-120-2022　　Location: 4.2.2.6.11　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Assessment of GS-7340 as a Substrate for Human OATP1B1 and OATP1B3

Methods:	The potential of TAF as a substrate in human OATP1B1 and OATP1B3 was assessed in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells, either wild type or transfected with the genes encoding human OATP1B1 or OATP1B3 in the presence and absence of 40 µmol/L rifampicin (OATP inhibitor). Following removal of media, the cell extracts were analyzed by LC/MS/MS.

	Uptake Rate (pmole/min/million cells) (Mean of n=3)		
Test Compound	**TAF (10 µmol/L)**	**TAF (10 µmol/L) + Rifampicin (40 µmol/L)**	**Uptake Ratio**
CHO-WT	9.0	6.0	1.5
CHO-OATP1B1	12.0	6.2	1.9
CHO-OATP1B3	24.1	5.8	4.2
OATP1B1/WT Ratio	1.3	NA	NA
OATP1B3/WT Ratio	2.7	NA	NA

NA = not applicable; OATP = organic anion transporting polypeptide (SLCO or SLC21A gene products); TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.15　L 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

ヒト初代肝細胞での OATP 阻害剤の TAF 肝取込みへの影響

Report Number: AD-120-2042　　Location: 4.2.2.6.12　　Test Article: TAF

Report Title: Effect of an OATP Inhibitor on uptake of TAF into Primary Human Hepatocytes

Methods:	The effect of OATP1B1 and OATP1B3 inhibitor, rifampin on TAF uptake into primary human hepatocytes was assessed by measuring the intracellular levels of the pharmacologically active nucleotide analog diphosphate, tenofovir diphosphate (TFV-DP). Cells were pre-incubated with 20 µmol/L rifampicin followed by incubation with 0.5 µmol/L TAF for 60 min. The amount of TFV-DP formation was analyzed by LC/MS/MS. Bosentan was used as a positive control.

Compound	**Hepatocyte Donor**	**Mean Concentration (pmole/million cells)[a]**		**%Inhibition**
		TAF	**TAF + 20 µmol/L Rifampicin**	
TAF	1	33.3	31.7	4.8
	2	12.6	11.8	6.3
	3	16.6	11.0	34
	4	9.3	8.0	14
	Mean ± SD	17.9 ± 10.6	15.6 ± 10.8	13
Bosentan	1	64.8	40.8	37
	2	53.4	36.0	33
	3	45.8	30.3	34
	4	81.1	43.5	46
	Mean ± SD	61.3 ± 15.4	37.7 ± 5.8	38

a　For TAF, intracellular levels of TFV-DP are reported and for bosentan, cell-associated levels are reported. Results are mean of duplicate experiments.
OATP = organic anion transporting polypeptide (SLCO or SLC21A gene products); TAF = tenofovir alafenamide

2.6.5.15　M 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF による OATP1B1、OATP1B3、P-gp 及び BCRP 阻害作用

Report Number: AD-120-2019　　Location: 4.2.2.6.13　　Test Article: TAF

Report Title: *In Vitro* Assessment of GS-7340 Inhibition of Human OATP1B1, OATP1B3, P-gp, and BCRP

Methods	The inhibition potential of TAF of human OATP1B1 and OATP1B3 was assessed in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells, either wild type or transfected with the genes encoding human OATP1B1 or OATP1B3. TAF (final concentration of 0.14 -100 µmol/L) and positive control compound were diluted in assay buffer containing 2 µmol/L Fluo 3. Following removal of media containing Fluo 3, the cells were immediately analyzed for Fluo 3 fluorescence at an excitation of 485 nm and emission of 530 nm. The inhibition potential of TAF (final concentration of 0.41 -100 µmol/L) of human P-gp and BCRP was assessed in Madin Darby Canine Kidney (MDCKII) cells, either wild type or transfected with the genes encoding human P-gp or BCRP. The incubation was carried out in cell culture medium (without FBS) containing 10 µmol/L Calcein AM for 1h (P-gp) or 1 µmol/L pheophorbide a (PhA) for 18h (BCRP). Following removal of media containing calcein AM or PhA, the cells were analyzed immediately for calcein fluorescence at an excitation of 494 nm and an emission of 517 nm or PhA fluorescence at an excitation of 415 nm and an emission of 675 nm.

	Uptake Transporters IC_{50} (µmol/L) (Mean ± SD)		**Efflux Transporters IC_{50} (µmol/L) (Mean ± SD)**	
Test Compound	**OATP1B1**	**OATP1B3**	**P-gp**	**BCRP**
TAF	>100	>100	>100	>100
Rifampicin	2.4 ± 1.1	1.7 ± 0.4	NA	NA
Verapamil	NA	NA	3.7 ± 3.1	NA
Fumitremorgin C	NA	NA	NA	0.32 ± 0.03

BCRP = breast cancer resistance protein; NA = not applicable; P-gp = P-glycoprotein; TAF = tenofovir alafenamide
Results are mean of duplicate measurements from two independent assays (n=4).

2.6.5.15　N 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が P-gp の基質であるかの検討

Report Number: AD-236-2004　　Location: 4.2.2.6.14　　Test Article: TFV

Report Title: Bidirectional Permeability of Elvitegravir, Emtricitabine, Tenofovir, and Cobicistat (Quad) through Monolayers of P-glycoprotein Over-expressing Cells

Methods:	The potential for TFV to act as a substrate for P-gp (MDR1) was tested in monolayers of either wild type, MDR1-transfected Madin-Darby canine kidney (MDCK II) cells (MDCK II-WT and MDCK II-MDR1, respectively). The effects of transporter-selective inhibitors were also assessed.

Cell Type	Direction	Initial Conc. (µmol/L)	Recovery (%)	P_{app} (10^{-6} cm/s)			Efflux Ratio
				Replicate 1	Replicate 2	Average	
MDCK II-WT	Cell-Free	9.8	88	13.3	–	13.3[a]	–
	Forward	9.5	104	0.18	0.11	0.15	1.5
	Reverse	13.1	95	0.19	0.25	0.22	
MDCK II-MDR1	Forward	16.0	94	0.10	0.12	0.11	1.0
	Reverse	16.8	92	0.07	0.15	0.11	
MDCK II-MDR1 (10 µmol/L CsA)	Forward	13.2	83	0.12	0.07	0.10	1.5
	Reverse	11.0	82	0.14	0.15	0.14	

CsA = cyclosporin A; MDCK II = Madin-Darby canine kidney cells; MDR1 = P-glycoprotein (P-gp, ABCB1 gene product); P_{app} = apparent permeability; TFV = tenofovir; WT = wild type
a　Slightly lower than optimal cell-free permeability.

2.6.5.15　O 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が BCRP の基質であるかの検討

Report Number: AD-236-2005　Location: 4.2.2.6.15　Test Article: TFV

Report Title: Bidirectional Permeability of Elvitegravir, Emtricitabine, Tenofovir, and Cobicistat (Quad) through Monolayers of BCRP Over-expressing Cells

Methods:	The potential for TFV to act as a substrate for BCRP was tested in monolayers of either wild type, BCRP-transfected Madin-Darby canine kidney (MDCK II) cells (MDCK II-WT and MDCK II-BCRP, respectively). The effects of transporter-selective inhibitors were also assessed.

Cell Type	**Direction**	**Initial Conc. (µmol/L)**	**Recovery (%)**	**P_{app} (10^{-6} cm/s)**			**Efflux Ratio**
				Replicate 1	**Replicate 2**	**Average**	
MDCKII-WT	Cell-Free	9.8	88	13.3	–	13.3	–
	Forward	9.5	104	0.18	0.11	0.15	1.5
	Reverse	13.1	95	0.19	0.25	0.22	
MDCKII-BCRP	Forward	12.1	92	0.17	0.14	0.16	2.3
	Reverse	13.1	81	0.40	0.32	0.36	
MDCKII-BCRP (10 µmol/L Ko134)	Forward	11.2	91	0.18	0.21	0.19	3.4
	Reverse	11.2	97	0.85	0.45	0.65	

BCRP = breast cancer resistance protein; MDCK II = Madin-Darby canine kidney cells; P_{app} = apparent permeability; TFV = tenofovir; WT = wild type

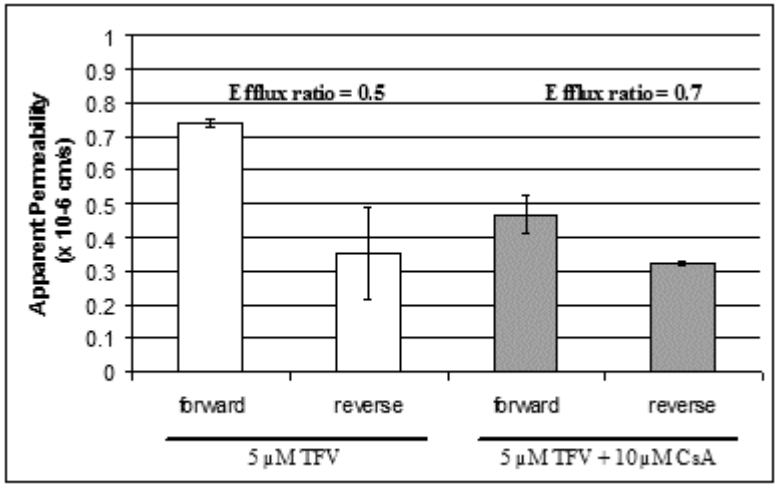
2.6.5.15　P 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が P-gp の基質／阻害剤であるかどうかの検討

Report Number: AD-104-2002　　Location: 4.2.2.6.16　　Test Article: TFV

Report Title: Lack of a Contribution from P-glycoprotein (P-gp) in the Active Tubular Secretion of Tenofovir

Methods	*In vitro* bidirectional permeability experiments with TFV (5 and 50 µmol/L) in Caco-2 cell monolayers. *In vitro* inhibition studies of the accumulation of a model multidrug resistance protein (MDR1; P-glycoprotein) substrate (calcein) by TFV (up to 1000 µmol/L) were conducted following incubation of a Madin-Darby canine kidney cell line (MDCK II), both parental and stably transfected with human P-gp, with calcein AM.
Results:	The figure (Mean ± SD , n=2 independent experiments) below shows the forward and reverse permeability of TFV through Caco-2 cell monolayers, and the calculated efflux ratio in the presence or absence of CsA. TFV had similar forward and reverse permeability that was unaffected by incubation with the P-gp inhibitor CsA (cyclosporine A). Similar results obtained from incubations of 50 µmol/L TFV (data not shown).



TFV = tenofvir; MDR1 = P glycoprotein (P-gp, ABCB1 gene product); MDCK II = Madin-Darby canine kidney cells; P-gp = P glycoprotein; SD = standard deviation

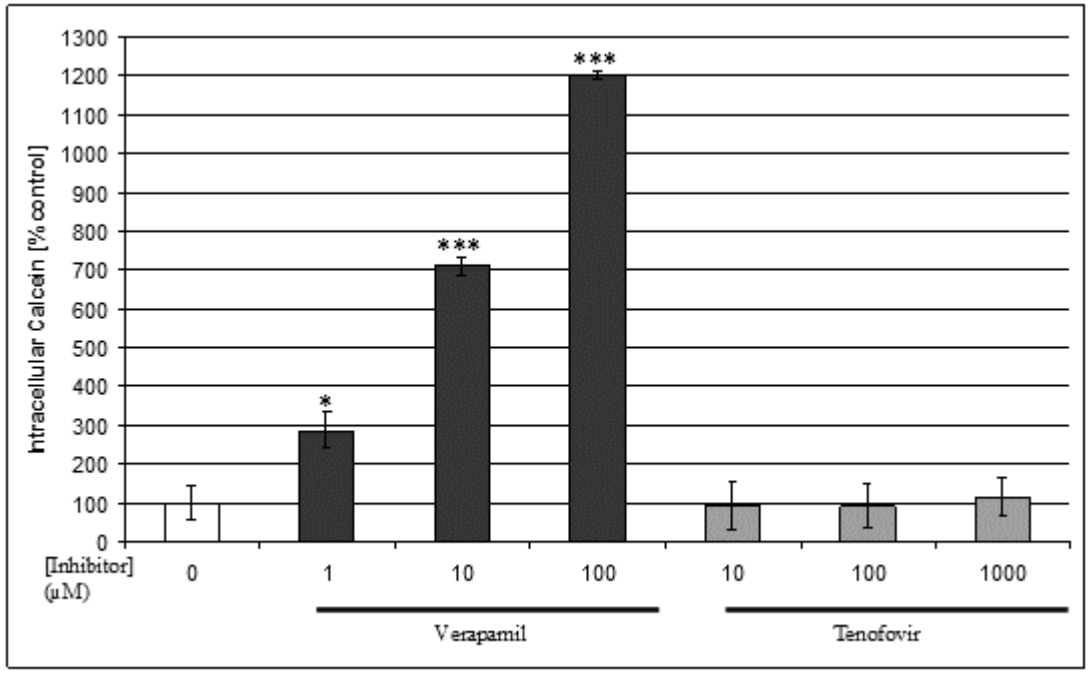
2.6.5.15　P 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が P-gp の基質／阻害剤であるかどうかの検討（続き）

Report Number: AD-104-2002	Test Article: TFV

Report Title: Lack of a Contribution from P-glycoprotein (P-gp) in the Active Tubular Secretion of Tenofovir

Results:	The figure (Mean ± SD , at least n= 4 independent experiments) below displays the effect of TFV and the control P-gp inhibitor, verapamil, on the accumulation of the fluorescent P-gp substrate calcein in MDCK cells transfected with human P-gp. Verapamil significantly inhibited P-gp and resulted in higher intracellular calcein levels with increasing concentration. Tenofovir at concentrations up to 1000 µmol/L did not inhibit the P-gp efflux of calcein.



Conclusion: The observation that TFV has an efflux ratio close to 1, which is not affected by a P-gp inhibitor, in Caco-2 cell monolayers suggests that it is not a P-gp substrate. TFV did not inhibit the transport of a P-gp substrate when tested at suprapharmacological concentrations in MDCK II cells stably transfected with P-gp indicating that it is not a substrate or inhibitor of P-gp.

2.6.5.15　Q 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV による P-gp 及び BCRP 阻害作用

Report Number: AD-236-2003　Location: 4.2.2.6.17　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Inhibition of Human P-gp and BCRP by Elvitegravir, Emtricitabine and Tenofovir

Methods:	The inhibition of the ATP-Binding Cassette (ABC) efflux transporters P-glycoprotein (P-gp) transporter and breast cancer resistance protein (BCRP) by EVG, COBI, FTC, and TFV was assessed *in vitro* using the MDCK II cells expressing individual transporters and fluorescent model substrates. The concentration of TFV was 0.41 -100µmol/L. Verapamil was the positive control inhibited P-gp activity and fumitremorgin C was the positive control inhibitor in BCRP inhibition assay.

	Efflux Transporter IC_{50} (µmol/L)	
Test Compound	**P-gp**	**BCRP**
EVG	69.7 ± 5.4	88.9 ± 16.0
FTC	>100	>100
TFV	> 1000[a]	>100
COBI	36 ± 10[b]	59 ± 28[c]
Verapamil	5.2 ± 1.2	NA
Fumitremorgin C (FTC)	NA	0.37 ± 0.18

COBI = cobicistat; EVG = elvitegravir; FTC = emtricitabine; MDCKII = Madin-Darby canine kidney cells; SD = standard deviation; TFV = tenofovir; NA = not applicable
Results are mean ± SD of duplicate experiments.
a　Ray et al.,2006. Mechanism of Active Renal Tubular Efflux of TFV. Anticomb. Agents Chemother. 50(10); 3297-3304
b　AD-216-2030: Interaction of GS-9350 and Ritonavir with MRP1, MRP2, and Pgp.
c　AD-216-2099: In Vitro Assessment of Cobicistat and Ritonavir Inhibition of Human Breast Cancer Resistance Protein

2.6.5.15　R 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV の OATB1B1／1B3 阻害作用

Report Number: AD-236-2006　　Location: 4.2.2.6.18　　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Inhibition of Human OATP1B1 and OATP1B3 by Emtricitabine and Tenofovir

Methods	The inhibition potential of test compounds of human OATP1B1 and OATP1B3 was assessed in Chinese hamster ovary (CHO) cells, either wild type or transfected with the genes encoding human OATP1B1 or OATP1B3. The test compounds (0.14-100 µmol/L) and positive control compound were diluted in assay buffer containing 2 µmol/L Fluo 3. Following removal of media containing Fluo 3, the cells were analyzed for Fluo 3 fluorescence at an excitation of 485 nm and emission of 530 nm. Rifampicin was used as positive control.

	Influx Transporters IC_{50} (µmol/L)	
Test Compound	**OATP1B1**	**OATP1B3**
Elvitegravir	>2[a]	0.44 ± 0.22[a]
Emtricitabine	>100	>100
Tenofovir	> 100	>100
Cobicistat	3.50 ± 0.72[b]	1.88 ± 0.76[b]
Rifampicin	1.3 ± 0.8	3.0 ± 0.7

OATP = organic anion transporting polypeptide; TFV = tenofovir
Results are mean ± SD of duplicate measurements from two independent assays.
a　AD-183-2030: In Vitro Assessment of Elvitegravir Inhibition of Human OATP1B1 and OATP1B3.
b　AD-216-2100: In Vitro Assessment of Cobicistat and Ritonavir Inhibition of Human OATP1B1 and OATP1B3.

2.6.5.15　S 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び BSEP に対する阻害作用並びに OCT1 の基質であるかどうかの検討

Report Number: AD-120-2036　　Location: 4.2.2.6.19　　Test Article: TAF

Report Title: Studies to Determine if Tenofovir Alafenamide (GS-7340) is an Inhibitor of OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and BSEP or a Substrate for OCT1

Methods:	The potential for TAF (0.14-100 µmol/L) to inhibit the human organic anion and cation uptake transporters, and multidrug and toxin extrusion transporter MATE1 was assessed *in vitro* using transfected Chinese Hamster Ovary (CHO) cells (for OAT1, OCT1, OCT2, and MATE1), transfected Flp-In 293 cells (for OAT3). The amount of substrate inside the cells was determined by liquid scintillation/fluorescence reader.

Inhibitor or Enhancer	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition at 100 µmol/L (% of control)**
OCT1	>100	26
OCT2	>100	NA
OAT1	>100	8
OAT3	>100	16
MATE1	>100	34

BSEP = bile salt export pump; MATE1 = multidrug and toxin extrusion protein 1; NA = not applicable; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; TAF = tenofovir alafenamide
Assay were performed in triplicate.

2.6.5.15　S 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び BSEP に対する阻害作用並びに OCT1 の基質であるかどうかの検討（続き）

Report Number: AD-120-2036　　Test Article: TAF

Report Title: Studies to Determine if Tenofovir Alafenamide (GS-7340) is an Inhibitor of OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and BSEP or a Substrate for OCT1

Methods	The potential for TAF to inhibit the bile salt export pump BSEP was assessed *in vitro* using transfected Sf9 cell membrane vesicles cells. TAF was incubated with membrane vesicle preparations (total protein: 50 µg/well) and probe substrate, taurocholate (2 µmol/L) in the absence or presence of ATP. The amount of substrate inside the filtered vesicles was determined by liquid scintillation counter.

Inhibitor or Enhancer	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition at 100 µmol/L (% of control)**
BSEP	>100	43

TAF = tenofovir alafenamide; Sf9 = Spodoptera frugiperda ovarian cells
Assay were performed in duplicate.

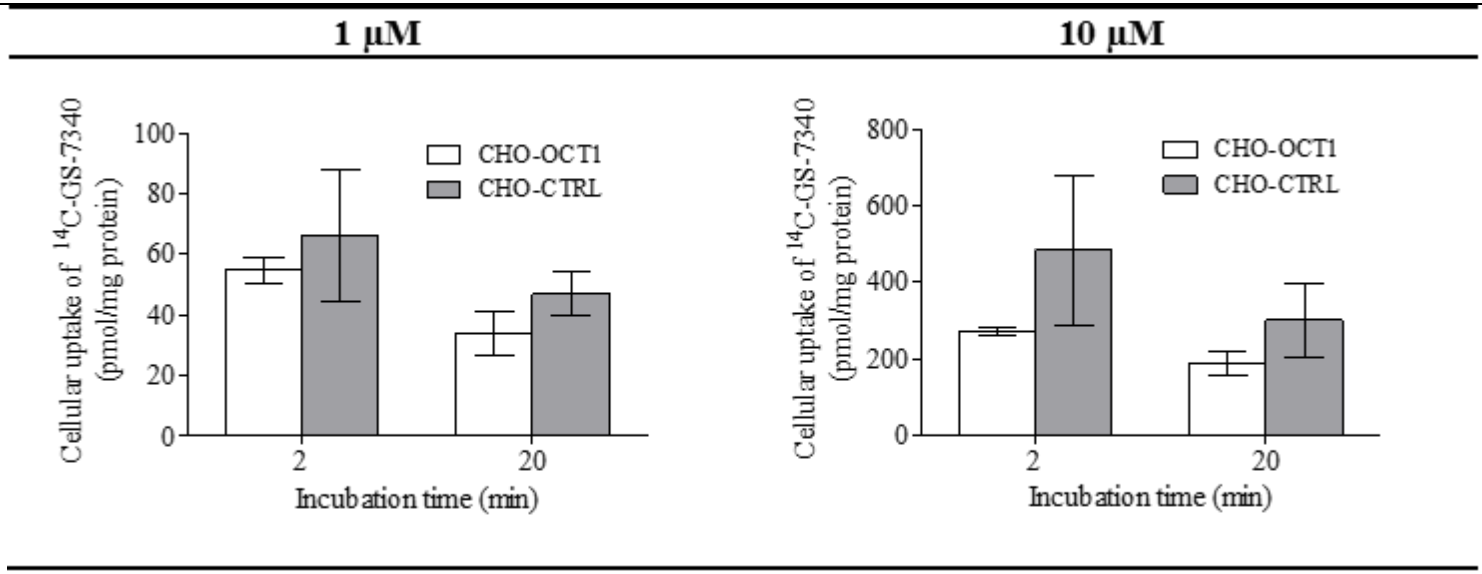
2.6.5.15　S 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び BSEP に対する阻害作用並びに OCT1 の基質であるかどうかの検討（続き）

Report Number: AD-120-2036　　Test Article: TAF

Report Title: Studies to Determine if Tenofovir Alafenamide (GS-7340) is an Inhibitor of OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and BSEP or a Substrate for OCT1

Methods	The interactions of TAF with human organic cation transporters OCT1 was assessed *in vitro* using OCT1 transporter-expressed Chinese hamster ovary (CHO) cells. Transporter specific accumulation into OCT1 transporter-expressing cells was investigated at 2 concentrations (1 and 10 µmol/L) and time points (2 and 20 minutes) to determine if TAF is a substrate for this transporter.
Results	TAF was found not to be a substrate for OCT1 based on no transporter specific accumulation of TAF into OCT1 transporter-expressing cells (Data are represented Mean ± SD).



TAF = tenofovir alafenamide; OCT = organic cation transporter; SD = standard deviation; CTRL = non-transfected control
Assay were performed in triplicate.

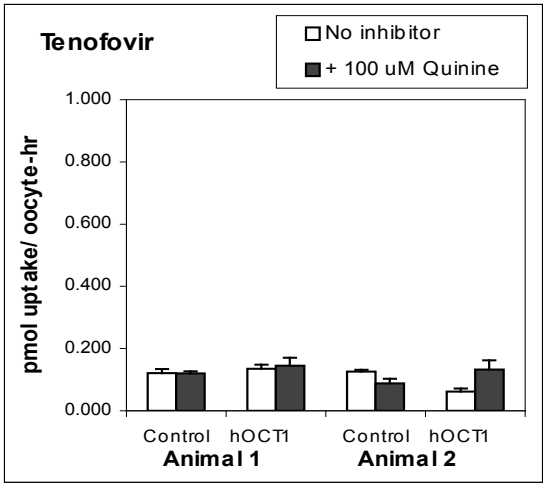
2.6.5.15　T 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

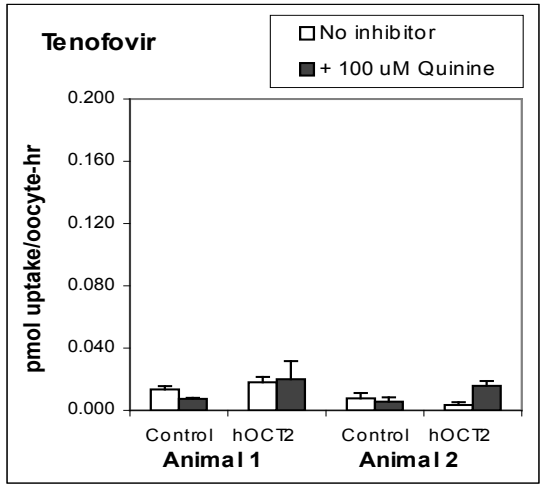
TFV が OCT1、OCT2 及び OAT3 の基質であるかどうかの検討並びに TFV の OAT3 に対する阻害作用

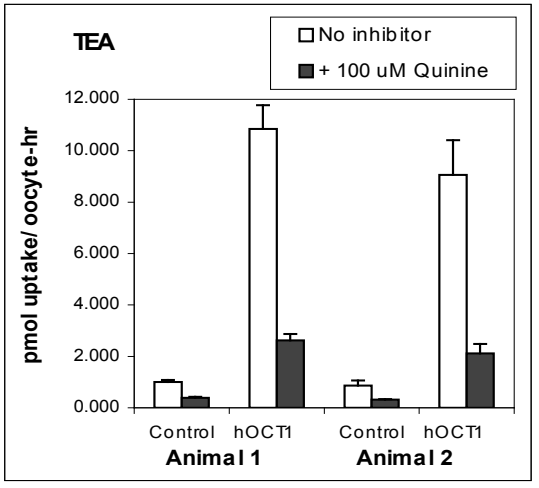
Report Number: PC-103-2001　　Location: 4.2.2.6.20　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: *In Vitro* Interactions of Acyclic Nucleoside Phosphonate Analogs with Human Organic Cation and Anion Transporters

Type of Study:	*In vitro* study to evaluate the interactions of tenofovir (TFV) with human organic anion transporter OAT3 and human cation transporters OCT1 and OCT2.
Methods:	The interactions of TFV with OCT1, OCT2, and OAT3 were studied in a Xenopus oocyte expression system through uptake transport of [^{3}H]-TFV (10 µmol/L) and appropriate control substrates ([^{14}C]-TEA triethylamine, 100 µmol/L for OCT1 and OCT2, and [^{3}H]-estrone sulphate (100 nmol/L) for OAT3) in the absence and presence of quinine 100 µmol/L or probenecid 500 µmol/L. Inhibition studies were also conducted for OAT3 by measuring the uptake of [^{3}H]-estrone sulphate (1 µmol/L) in the presence of TFV and the positive control inhibitor, probenicid, at concentrations from 50 to 1000 µmol/L. For OCT1 and OAT3, 8-10 oocytes per animal and for OCT2, 7-8 ooccytes per animal were investigated.
Results (OCT1 and OCT2):	The figures (Mean ± SE) below show the results of uptake studies of [^{3}H]-TFV (10 µmol/L) for OCT1 and OCT2 in comparison to a water-injected oocytes (Control) in the presence and absence of the inhibitor quinine. The positive control substrate, TEA, showed the expected high level of transport. TFV was shown not to be a substrate for OCT1 and OCT2.







SE = standard error

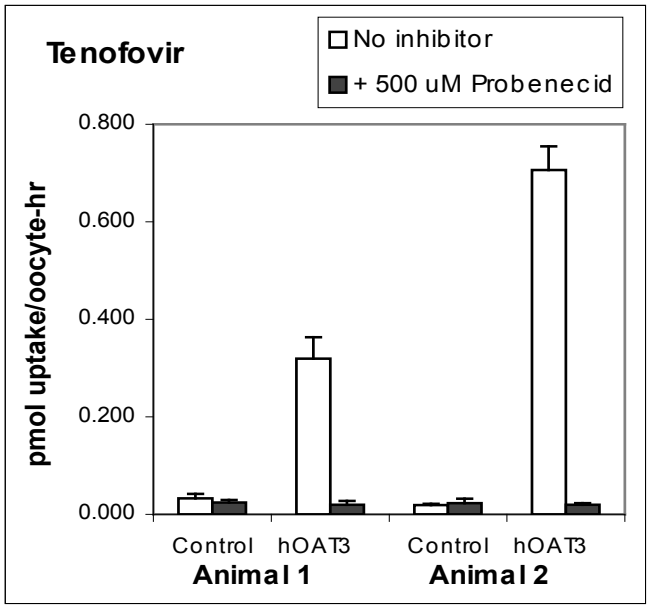
2.6.5.15　T 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

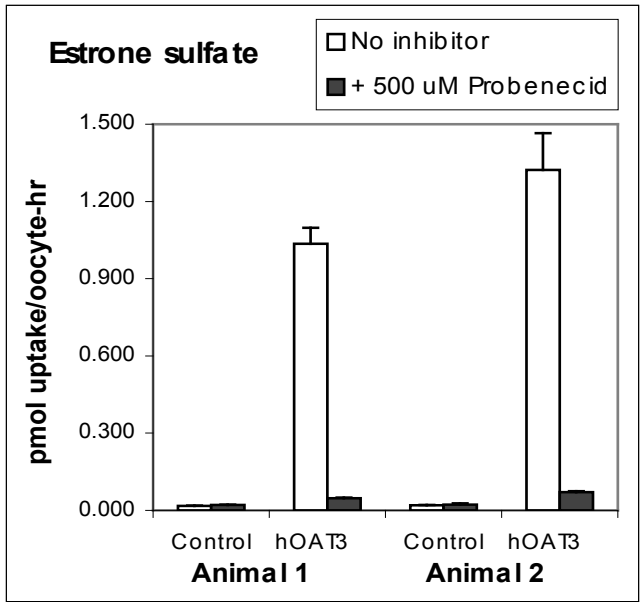
TFV が OCT1、OCT2 及び OAT3 の基質であるかどうかの検討並びに TFV の OAT3 に対する阻害作用（続き）

Report Number: PC-103-2001	Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: *In Vitro* Interactions of Acyclic Nucleoside Phosphonate Analogs with Human Organic Cation and Anion Transporters

Results (OAT3):	The figures (Mean + SE) below display the results of uptake studies of [^{3}H]-TFV (10 μmol/L) for human OAT3 in comparison to water-injected oocytes (Control) in the presence and absence of the control inhibitor, probenecid. The positive control substrate [^{3}H]-estrone sulphate showed the expected high level of transport. TFV was shown to be a substrate for OAT3 transport.





SE = standard error

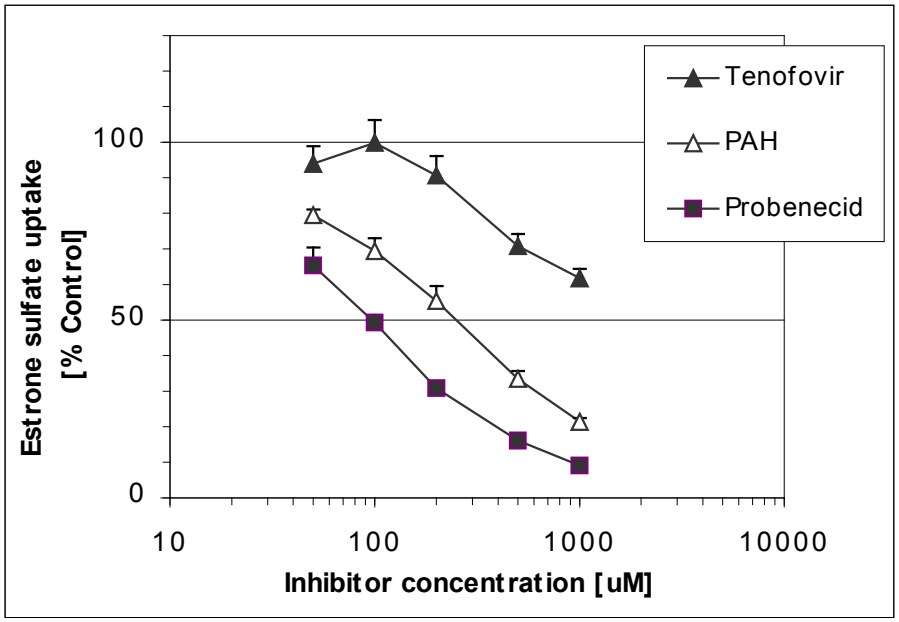
2.6.5.15　T 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が OCT1、OCT2 及び OAT3 の基質であるかどうかの検討並びに TFV の OAT3 に対する阻害作用（続き）

Report Number: PC-103-2001　　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Interactions of Acyclic Nucleoside Phosphonate Analogs with Human Organic Cation and Anion Transporters

Results (Inhibition of OAT3 mediated transport):	The affinity of TFV (50-1000 µmol/L) for OAT3 was assessed indirectly through inhibition of the transport of [^{3}H]-estrone sulphate in comparison to the effect of probenicid and para-aminohippurate (PAH). The results are shown in the figure below. No inhibition of OAT3 was observed in the presence of up to 100 µmol/L TFV indicating a low affinity interaction between TFV and OAT3 (Data are represented as Mean + SE from 6-8 oocytes per each inhibitor concentration.).



Conclusion: This study demonstrated that TFV was not a substrate for human organic cation transporters OCT1 and OCT2. TFV was shown to be a low affinity substrate for OAT3.
SE = stamdard error; TFV = tenofovir

2.6.5.15　U 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT1 を介した取込みへの影響

Report Number: PC-104-2010　　Location: 4.2.2.6.21　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors and Other Therapeutics on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 1 (hOAT1)

Methods:	The effect of protease inhibitors and other therapeutics on the OAT1 mediated transport of [^{3}H]-TFV (1.2 µmol/L) was studied in a stable cell line (CHO-OAT1 cells). The test drugs were examined at concentrations corresponding to 3x, 1x and 0.33x their reported clinical C_{max} values.

Tested drug	**Concentration (Fold Clinical C_{max})**	**Transport of TFV by OAT1 [% control]**	
		Serum-free Medium	**50% Human Serum[a]**
None	-	100	100
Lopinavir	3×	62.5 ± 0.7	113.0 ± 19.8
	1×	87.5 ± 0.7	94.8 ± 1.8
	0.33×	96.0 ± 4.2	109.0 ± 7.1
Lopinavir/ritonavir	3×	55.0 ± 2.8	95.0 ± 5.7
	1×	86.5 ± 0.7	97.0 ± 5.7
	0.33×	109.5 ± 3.5	103.0 ± 0.0
Ritonavir	3×	73.0 ± 7.1	98.5 ± 6.4
	1×	89.5 ± 4.9	97.5 ± 7.8
	0.33×	95.5 ± 4.9	102.5 ± 13.4

2.6.5.15　U 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT1 を介した取込みへの影響（続き）

Report Number: PC-104-2010　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors and Other Therapeutics on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 1 (hOAT1)

Tested drug	Concentration (fold Clinical C_{max})	Transport of TFV by OAT1 [% Control]	
		Serum-free Medium	50% Human Serum[a]
Atazanavir	3×	104.0 ± 0.0	nd
	1×	102.0 ± 2.8	nd
	0.33×	103.5 ± 3.5	nd
Saquinavir	3×	88.5 ± 9.2	102.5 ± 10.6
	1×	90.0 ± 8.5	96.0 ± 7.1
	0.33×	97.5 ± 2.1	98.0 ± 9.9
Nelfinavir	3×	63.5 ± 13.4	90.5 ± 6.4
	1×	78.5 ± 10.6	94.0 ± 1.4
	0.33×	95.0 ± 12.7	107.5 ± 0.7
Amprenavir	3×	78.5 ± 7.8	96.5 ± 12.0
	1×	85.0 ± 8.5	104 ± 9.9
	0.33×	98.0 ± 7.1	109 ± 8.5

2.6.5.15　U 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT1 を介した取込みへの影響（続き）

Report Number: PC-104-2010　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors and Other Therapeutics on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 1 (hOAT1)

Tested Drug	Concentration (fold Clinical C_{max})	Transport of TFV by OAT1 [% Control]	
		Serum-free Medium	50% Human Serum[a]
None	-	100	100
Acyclovir	3×	91 ± 2.8	nd
	1×	94 ± 2.8	nd
	0.33×	101 ± 4.2	nd
Ganciclovir	3×	101 ± 0.0	nd
	1×	92.5 ± 7.8	nd
	0.33×	102.5 ± 0.7	nd
Oseltamivir carboxylate	3×	101 ± 2.8	nd
	1×	102 ± 1.4	nd
	0.33×	118 ± 2.8	nd
Trimethoprim	3×	103.5 ± 6.4	nd
	1×	98.5 ± 4.9	nd
	0.33×	101.5 ± 0.7	nd
Sulfamethoxazole	3×	79.5 ± 6.4	91.5 ± 0.7
	1×	93.5 ± 0.7	98.5 ± 0.7
	0.33×	102 ± 1.4	112 ± 4.2

2.6.5.15　U 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT1 を介した取込みへの影響（続き）

Report Number: PC-104-2010　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors and Other Therapeutics on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 1 (OAT1)

Tested Drug	Concentration (fold Clinical C_{max})	Transport of TFV by OAT1 [% Control]	
		Serum-free Medium	50% Human Serum[a]
Amoxicillin	3×	91 ± 5.7	nd
	1×	91.5 ± 3.5	nd
	0.33×	94 ± 8.5	nd
Ibuprofen	3×	7[b]	99.5 ± 2.1
	1×	19[b]	102.5 ± 0.7
	0.33×	32[b]	114.5 ±4.9
Acetaminophen	3×	78.5 ± 3.5	94.5 ± 3.5
	1×	88 ± 1.4	94.5 ± 9.2
	0.33×	97 ± 7.1	106.5 ± 3.5

nd = not determined
a　Serum protein binding: lopinavir 98%, ritonavir 99%, atazanavir 86%, saquinavir 97%, nelfinavir 98%, amprenavir 90%.
b　n=1

2.6.5.15　V 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT3 を介した取込みへの影響

Report Number: PC-104-2011　　Location: 4.2.2.6.22　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 3 (hOAT3)

Type of Study:	*In vitro* study was conducted in appropriate cell lines expressing hOAT3 to define the role of OAT3 in tenofovir (TFV) transport and to assess the effect of HIV protease inhibitors (HIV-PIs) on the OAT3 transport of TFV.
Methods:	The effect of HIV-PIs on the OAT3 mediated transport of [^{3}H]-TFV (1.2 µmol/L) was studied in a stable cell line (BHK-OAT3 cells). HIV-PIs were tested at concentrations corresponding to 2x, 1x, and 0.5x their reported clinical C_{max} values. The kinetics of [^{3}H]-TFV and [^{3}H]-estrone sulphate transport were also determined in BHK-OAT3 cells.

Substrate	**K_m [µmol/L]**	**V_{max} [pmol/10^6 cells/min]**	**Transport efficiency (V_{max}/K_m)**
Tenofovir (n=3)	767 ± 145	31.6 ± 8.0	0.043 ± 0.016
Estrone sulfate (n=4)	3.0 ± 1.2	2.9 ± 1.2	0.97 ± 0.15

2.6.5.15　V 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT3 を介した取込みへの影響（続き）

Report Number: PC-104-2011　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors on the Transport of Tenofovir by Human Renal Organic Anion Transporter Type 3 (hOAT3)

Tested PI	Concentration [fold Clinical C_{max}]	Transport of TFV by OAT3 [% control]	
		Serum-free Medium	40% Human serum[a]
No inhibitor	-	100	100
Ritonavir	0.5x	57.7 ± 5.1	87.1 ± 6.7
	1x	38.4 ± 5.7	65.9 ± 8.8
	2x	21.1 ± 3.2	59.4 ± 7.0
Lopinavir/ritonavir	0.5x	78.9 ± 2.6	93.3 ± 12.2
	1x	63.5 ± 8.7	92.1 ± 6.8
	2x	46.1 ± 5.1	78.5 ± 9.1
Atazanavir	0.5x	102.3 ± 1.6	103.8 ± 14.9
	1x	94.7 ± 7.8	98.5 ± 4.4
	2x	90.8 ± 2.4	97.1 ± 7.7
Nelfinavir	0.5x	84.6 ± 2.3	102.0 ± 10.2
	1x	73.1 ± 3.2	101.6 ± 11.2
	2x	47.7 ± 2.3	99.4 ± 9.8
Saquinavir	0.5x	98.3 ± 0.1	99.2 ± 8.7
	1x	95.1 ± 3.6	98.3 ± 3.7
	2x	98.8 ± 3.7	101.1 ± 13.2

2.6.5.15　V 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

他剤による TFV の OAT3 を介した取込みへの影響（続き）

Report Number: PC-104-2011　　Test Article: [^{3}H]-TFV

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors on the Transport of TFV by Human Renal Organic Anion Transporter Type 3 (hOAT3)

Tested PI	**Concentration [fold Clinical C_{max}]**	**Transport of TFV by OAT3 [% control]**	
		Serum-free Medium	**40% Human serum[a]**
Amprenavir	0.5x	87.8 ± 5.6	97.0 ± 2.7
	1x	81.4 ± 3.1	90.3 ± 5.2
	2x	78.7 ± 2.4	86.0 ± 1.5

Conclusion: TFV was found to be a low affinity substrate for OAT3 (K_m 767 µmol/L). When adjusted for plasma protein binding and tested at their clinical C_{max} concentration, HIV-PIs had no significant effect on TFV transport by OAT3.

a　Serum protein binding: lopinavir 98%, ritonavir 99%, atazanavir 86%, saquinavir 97%, nelfinavir 98%, amprenavir 90%.

2.6.5.15　W 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV が OCT2 の基質であるかどうかの検討

Report Number: AD-236-2011　　Location: 4.2.2.6.23　　Test Article: TFV

Report Title: *In vitro* Interaction Study of Emtricitabine and Tenofovir with the Human OCT2 Uptake Transporter

Methods	The potential for test compounds that as substrates for the renal uptake transporter organic cation transporter (OCT2) was assessed *in vitro* using wild-type and transfected Chinese Hamster Ovary (CHO) cells. The transporter specific uptake of emtricitabine and TFV was determined using cells overexpressing the OCT2 uptake transporters as well as the control (parental) cells. The test articles were incubated at 37±1°C at final concentrations of 1 and 10 µmol/L. The amount of substrate inside the cells was determined by LC/MS method.

Condition (Concentration[µmol/L]/Time[min.])	**Fold Accumulation (Mean, n=3)**	
	Emtricitabine	**Tenofovir**
1/2	2.35[a]	1.24
1/20	1.12	1.37
10/2	1.10	0.82
10/20	1.82	0.98

TFV = tenofovir
a　Considered outlier

2.6.5.15　X 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV の OCT1 及び BSEP に対する阻害作用

Report Number: AD-236-2008　　Location: 4.2.2.6.24　　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Inhibition Studies of Stribild Components with Human OCT1 and BSEP Transporters

Methods	The potential for test compounds to inhibit the human organic cation uptake transporter (OCT1) and bile salt export pump (BSEP) was assessed *in vitro* using transfected Chinese Hamster Ovary (CHO) cells. In OCT1 cellular uptake assay, plated cells were washed with Krebs-Henseleit buffer and were then exposed for 10 minutes to the same buffer containing [^{14}C]-tetraethylammonium chloride (TEA) substrate (3.6 µmol/L) and test compounds. In BSEP vesicular transport assay, TFV was incubated with membrane vesicle preparations (total protein: 50 µg/well) and probe substrate, taurocholate (2 µmol/L) in the absence or presence of ATP. The amount of substrate inside the cells was determined by liquid scintillation counting for both assays.

	Elvitegravir		**Emtricitabine**		**Tenofovir**		**Cobicistat**		**Ritonavir**	
Transporter	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition (%)**	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition (%)**	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition (%)**	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition (%)**	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition (%)**
OCT1	>20	30	>100	No Inhibition	>100	No Inhibition	14.7	76	~20	49
BSEP	>20	33	>100	No Inhibition	>100	No Inhibition	6.5	97	1.8	95.3

Stribild = fixed-dose combination of elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate; TFV = tenofovir
Note:　Maximum concentrations used for elvitegravir, emtricitabine, cobicistat, tenofovir and ritonavir were 20, 100, 100, 100, and 20 µmol/L, respectively.
OCT1 cellular uptake assay was performed in triplicate, and BSEP vesicular transport assay was in duplicate..

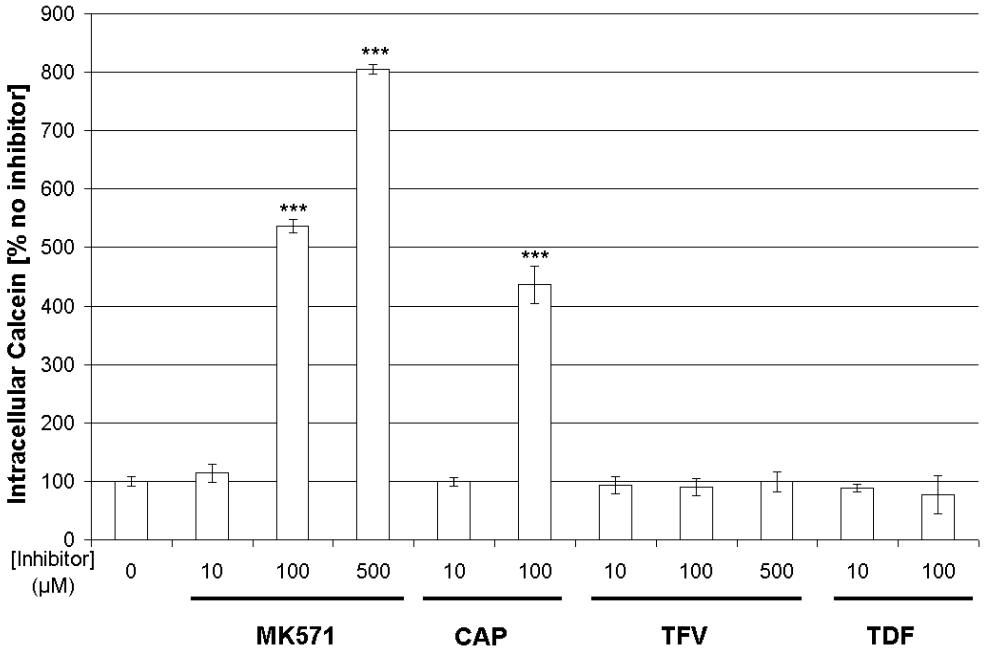
2.6.5.15　Y 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TFV の MRP1 に対する阻害作用

Report Number: PC-104-2014	Location: 4.2.2.6.25	Test Article: TFV, TDF

Report Title: Lack of a Contribution from MRP1 in Tubular Re-absorption of TFV

Methods	Inhibition of the accumulation of a model MRP1 substrate (calcein) in a Madin-Darby canine kidney cell line (MDCK II) stably transfected with human MRP1, and treated with calcein-AM. Control inhibitors, MK571 and CAP (caffeic acid phenethyl ester), were tested in parallel. (Values are mean ± SD, n=4)



Conclusion: Suprapharmacological concentrations of TFV did not inhibit the transport of an MRP1 substrate in MDCK II cells stably transfected with MRP1.
SD = standard deviation; TDF = tenofovir disoproxil fumarate
*** $p < 0.001$ (student's unpaired two tailed t-test)

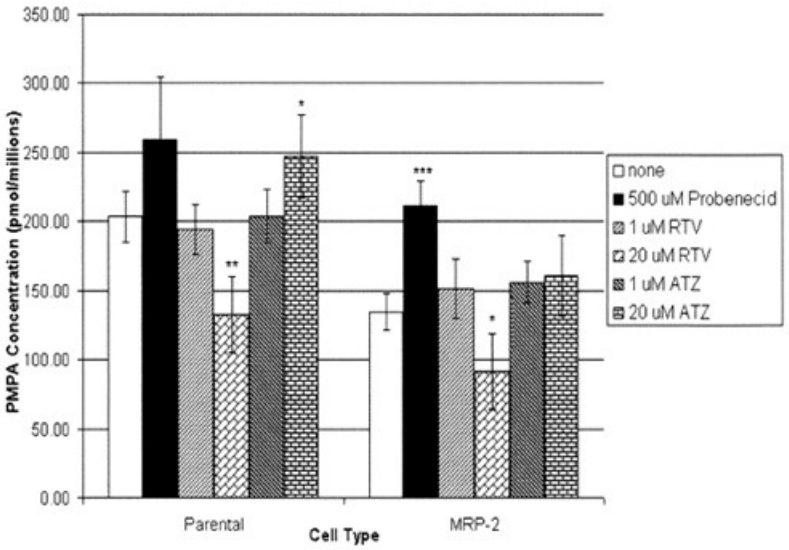
2.6.5.15　Z 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

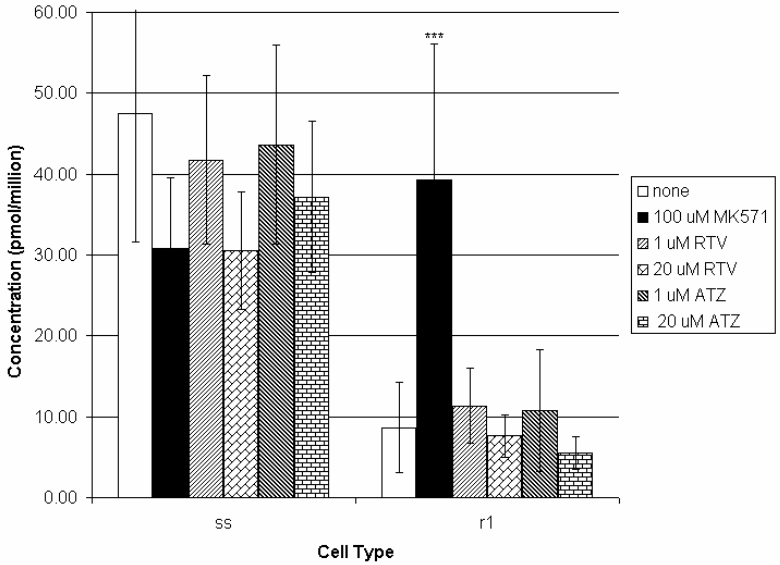
TFV が MRP2 及び MRP4 の基質であるかどうかの検討及び HIV プロテアーゼ阻害剤による影響

Report Number: AD-104-2001　Location: 4.2.2.6.26　Test Article: TDF

Report Title: Effect of HIV Protease Inhibitors on the Transport of Tenofovir by the Multidrug Resistance Related Proteins 2 and 4

Methods: The effects of RTV and ATZ on the accumulation of TFV in 2008 cells over-expressing MRP2 and CEM-R1 cells over-expressing MRP4 compared to espective parental cells following 1 h incubation with 1 µmol/L TDF. TFV levels were not significantly affected by MRP2. It was found that > 5-fold less TFV accumulated in CEM-R1cells (MRP4 over-expressing) relative to CEM-SS parental cells following 1h incubation with 1 µmol/L TDF. MK571 (100 µmol/L, a potent inhibitor of MRPs) was able to increase TFV levels in CEM-R1 cells to concentrations similar to those in CEM-SS cells. RTV and ATZ (1 and 20 µmol/L) had no significant effect on TFV levels in CEM-SS or –R1 cells. All assays were perfomed in duplicate. Data are represented as mean ± SD.





Conclusion: These findings implicate MRP4, but not MRP2, as a transporter potentially contributing to the active tubular secretion of TFV. The results of these studies also suggest that the HIV-PIs ATZ and RTV, even when tested at supra-pharmacological concentrations, are either weak or not inhibitors of transport mediated by MRP2 and MRP4.
Statistically significant change in intracellular TFV relative to no cotreatment in CEM-R1 cells (MRP4 overexpressing). Unpaired 2-tailed student's t-test assuming equal variance (***P < 0.001).
RTV = ritonavir; ATZ = atazanavir; MRP = multidrug resistance related proteins; TFV = tenofovir: TDF = tenofovir disoproxil fumarate; SD = standard deviation

2.6.5.15　AA 物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用試験（続き）

TAF の OCT2 及び MATE1 阻害作用

Report Number: AD-104-2012　　Location: 4.2.2.6.27　　Test Article: TFV

Report Title: *In Vitro* Inhibition Studies of Tenofovir with Human OCT2 and MATE1 Transporters

Type of Study:	*In vitro* study of the effect of TFV on the activity of the human renal transporters, OCT1 and MATE1, expressed individually in CHO cells.
Methods:	The model substrate was [^{14}C]-triethylamine (TEA, 3.6 µmol/L) and cell monolayers were exposed for 5 minutes (OCT2) or 20 minutes (MATE1) before being washed and cell-associated radioactivity determined. Results were compared to those obtained in nontransfected CHO cells. Positive control inhibitors (100 µmol/L verapamil for OCT2 and 100 µmol/L quinidine for MATE1) were tested in parallel.
Results:	In the absence of inhibitors, accumulation of TEA in transfected cells was 24-fold higher (OCT2) and 15-fold higher (MATE1) than parental CHO cells. Positive control inhibitors reduced the transporter-specific accumulation of TEA to 8.68 ± 2.56% (OCT2) and 3.70 ± 0.62% (MATE1) of the vehicle control, confirming sensitivity to inhibitors. At concentrations of TFV up to 300 µmol/L there was little or no effect on TEA accumulation.

Inhibitor	**Transporter**	**IC_{50} (µmol/L)**	**Maximum inhibition at 300 µmol/L**
TFV	OCT2	> 300	< 10%
	MATE1	> 300	~20%

CHO = Chinese hamster ovary; MATE1 = multidrug and toxin extrusion protein 1; OCT2 = organic cation transporter 2; TFV = tenofovir

2.6.5.16　　薬物動態試験：その他

該当なし。