ガラフォルド®カプセル 123 mg
に関する資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容についての責任は Amicus Therapeutics 株式会社に帰属するものであり、当該情報を適正使用以外の営利目的に利用することはできません。

Amicus Therapeutics 株式会社

ガラフォルド®カプセル 123mg

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

Amicus Therapeutics 株式会社

目次

1　まとめ 9
2　分析法 11
2.1　非標識体 11
2.1.1　LC-MS/MS 法を用いた血漿中ミガーラスタット定量法 11
2.1.2　LC-MS/MS 法を用いた乳汁中ミガーラスタット定量法 12
2.2　標識体 12
2.2.1　標識化合物 12
2.2.2　分析法 13
3　吸収 14
3.1　*In vitro* 14
3.1.1　Caco-2 透過性 14
3.2　*In vivo* 15
3.2.1　単回投与 15
3.2.2　反復投与 17
4　分布 29
4.1　*In vitro* 29
4.1.1　血漿タンパク結合 29
4.2　*In vivo* 29
4.2.1　マウスでの組織内分布 29
4.2.2　ラットでの組織内分布 31
4.2.3　ラットでの胎盤通過性 33
5　代謝（動物種間の比較） 34
5.1　*In vitro* 34
5.1.1　ヒト、サル及びラット肝細胞中の代謝安定性 34
5.2　*In vivo* 34
5.2.1　ラットでの代謝 34

6　排泄 36
6.1　*In vivo* 36
6.1.1　ラットでの排泄 36
6.1.2　ラットでの排泄及び呼気補足液中の回収率評価 37
6.1.3　ラットでの乳汁中排泄 38
7　薬物動態学的薬物相互作用 39
7.1　薬物代謝酵素の誘導／阻害 39
7.1.1　ヒト肝細胞での CYP1A2 及び CYP3A4 に対する誘導 39
7.1.2　ヒト肝細胞での CYP2B6 に対する誘導 39
7.1.3　ヒト肝ミクロソームでの CYP に対する阻害 39
7.2　トランスポーター 40
7.2.1　排出トランスポーター及び取り込みトランスポーターに対する阻害 40
7.2.2　排出トランスポーター及び取り込みトランスポーターの基質 40
7.2.3　SGLT1 の基質 41
7.2.4　SGLT1 に対する阻害 42
7.2.5　SGLT2 の基質 42
7.2.6　SGLT2 に対する阻害 42
8　その他の薬物動態試験 44
9　考察及び結論 45
10　参考文献 46

表目次

表 2.6.4 - 1　^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩の比放射活性及び放射化学的純度 13

表 2.6.4 - 2　サルでの 39 週間経口投与試験における各 TK 試料採取時期での動物数 27

表 2.6.4 - 3　Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与 24 時間後までの投与放射能に対する回収率..... 38

図目次

図 2.6.4 - 1　^{14}C-ミガーラスタットの構造式 12

図 2.6.4 - 2　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内及び経口投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移 16

図 2.6.4 - 3　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移 17

図 2.6.4 - 4　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移 17

図 2.6.4 - 5　雄 CByB6F1 マウスでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 1 回反復経口投与後の第 26 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移 19

図 2.6.4 - 6　雌 CByB6F1 マウスにミガーラスタット塩酸塩 1 日 1 回反復経口投与後の第 26 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移 19

図 2.6.4 - 7　雌雄 Sprague-Dawley ラットでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の第 181 日における血漿中ミガーラスタット濃度推移 22

図 2.6.4 - 8　Sprague-Dawley ラットでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の 第 29 週及び第 37 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移 24

図 2.6.4 - 9　カニクイザルでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の第 267/268 日における血漿中ミガーラスタット濃度推移 28

図 2.6.4 - 10　野生型 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の 血漿中及び組織中ミガーラスタット濃度推移 30

図 2.6.4 - 11　C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩 7 日間自由飲水投与後薬物動態及び組織分布 31

図 2.6.4 - 12　雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血液中及び血漿中総放射能濃度推移 32

図 2.6.4 - 13　雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の 組織中総放射能濃度推移 32

図 2.6.4 - 14　雌雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の総放射能の累積排泄率 37

略号及び用語の説明

略号及び用語	日本語	英語
ADME	吸収、分布、代謝及び排泄	Absorption, distribution, metabolism, and excretion
AT1001	ミガーラスタット塩酸塩の開発コード	Development code of migalastat hydrochloride
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve
AUC_{0-t}	0 時間から定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration
AUC_{0-inf}	0 時間から無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero extrapolated to infinity
AUC_{0-6}	0 時間から 6 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 6 hours postdose
AUC_{0-12}	0 時間から 12 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 12 hours postdose
AUC_{0-24}	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose
AUC_{6-24}	6 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve from time 6 to 24 hours postdose
$AUC_{ss(0-\tau)}$	定常状態の 1 投与間隔における 0 時間から定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve at steady-state, from time zero to the last quantifiable concentration during the dosing interval
BCRP	乳がん耐性タンパク質	Breast cancer resistance protein
BSEP	-	Bile salt export pump
Caco-2	ヒト結腸がん由来の細胞株	Human colonic adenocarcinoma cell line
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	Chinese hamster ovary
CL	総血漿クリアランス	Total plasma clearance
CL/F	見かけ上の総血漿クリアランス	Apparent total plasma clearance
C_{max}	最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration

略号及び用語	日本語	英語
C_{max1}	1 日 2 回投与レジメンにおける 1 回目投与後の最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used
C_{max2}	1 日 2 回投与レジメンにおける 2 回目投与後の最高血漿中濃度	Maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used
CYP	シトクロム P450	Cytochrome P450
EGTA	エチレングリコールビス四酢酸	Ethylene glycol tetraacetic acid
F_{abs}	絶対的バイオアベイラビリティ	Absolute bioavailability
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
GR181413A	ミガーラスタット塩酸塩の開発コード	Development code of migalastat hydrochloride
HEK	ヒト胚腎臓	Human embryonic kidney
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	High-performance liquid chromatography
IC_{50}	50%阻害濃度	Half maximal inhibitory concentration
ISR	-	Incurred Sample Reanalysis
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析	Liquid chromatography tandem mass spectrometry
LLOQ	定量下限	Lower limit of quantification
MATE	-	Multidrug and toxin extrusion protein
MDCKII	イヌ腎臓尿細管上皮	Madin-Darby canine kidney
mRNA	メッセンジャーリボ核酸	Messenger ribonucleic acid
OAT	-	Organic anion transporter
OATP	-	Organic anion transporting polypeptide
OCT	-	Organic cation transporter
P_{app}	みかけの透過性	Apparent permeability
P-gp	P 糖タンパク質	P-glycoprotein. This is also known as Multidrug resistance protein 1 (MDR1).
PK	薬物動態	Pharmacokinetics
SGLT	ナトリウム・グルコース共役輸送体	Sodium glucose cotransporter
TEER	経上皮電気抵抗	Transepithelial electrical resistance
TK	トキシコキネティクス	Toxicokinetics

略号及び用語	日本語	英語
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間	Observed time to reach C_{max}
t_{max1}	1 日 2 回投与レジメンにおける 1 回目投与後の最高血漿中濃度到達時間	Observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used
t_{max2}	1 日 2 回投与レジメンにおける 2 回目投与後の最高血漿中濃度到達時間	Observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used
$t_{1/2}$	消失半減期	Elimination half-life
V_{ss}	定常状態の分布容積	Steady-state volume of distribution
V_z/F	見かけ上の分布容積	Apparent volume of distribution

1　まとめ

一連の薬物動態試験により、マウス及びラットにおけるミガーラスタット塩酸塩（開発コード：AT1001、GR181413A）の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）並びに毒性試験で用いた主な動物種におけるトキシコキネティクス（TK）を包括的に評価した。ミガーラスタット塩酸塩の吸収機序を解明するため、ヒト結腸がん由来の細胞株（Caco-2）細胞を用いた *in vitro* 膜透過性試験も実施した。ミガーラスタット塩酸塩の血漿タンパク結合及び肝細胞における *in vitro* 代謝については、非臨床試験で用いた動物種とヒトを比較した。また、ヒト肝ミクロソームを用いて主要なシトクロム P450（CYP）に対する阻害作用並びにヒト肝細胞を用いて CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を評価した。排出トランスポーター、取り込みトランスポーター並びにナトリウム・グルコース共役輸送体（SGLT）1 及び SGLT2 に対する阻害剤／基質となるかについて検討した。本項では、これら試験の主な結果を要約した。各試験の詳細及び結果は、以下に示す個々の試験結果の要約及び 2.6.5 項に記載した。

薬物動態（PK）/TK 試験は、ミガーラスタット塩酸塩水溶液（静脈内投与では生理食塩液）を用いて実施した。血漿中ミガーラスタット濃度は、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法により 0.025 mL の血漿を用いて測定した。定量下限（LLOQ）は動物種で異なり、29.4～50.0 ng/mL であった。ミガーラスタット塩酸塩の単回及び反復投与による PK/TK 評価では、薬理学的及び毒性学的評価で用いた動物種である C57BL/6 及び CByB6F1 マウス、Sprague-Dawley ラット、New Zealand White ウサギ、ビーグル犬並びにカニクイザルを用いた。TK 評価は、1 日 1 回又は 2 回の経口投与による毒性試験の裏付けとして実施した。

In vivo の PK/TK 試験では、全ての動物種において、ミガーラスタットは経口投与後に速やかに吸収され、最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は概して投与 0.5～2 時間後であった。その後、血漿中ミガーラスタット濃度は速やかに低下し、消失半減期（$t_{1/2}$）の平均値は 9 時間未満であった。この $t_{1/2}$ と一致して、反復投与による血漿中ミガーラスタットの蓄積は認められなかった。全ての動物種において、ミガーラスタットの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）の増加率は高用量において用量比を下回ったが、検討した用量範囲ではミガーラスタットの経口吸収の飽和を示唆する所見は認められなかった。ヒトでは、本剤の申請用量であるミガーラスタット塩酸塩 150 mg を含む 75～1250 mg の用量範囲では 0 時間から定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-t}）は概して用量比例的に増加し、ミガーラスタットの経口吸収の飽和を示唆する所見は認められなかった（FAB-CL-101 試験；2.7.2.2.1.2 項及び FAB-CL-104 試験；2.7.2.2.1.3 項）。TK データから、様々な毒性試験で検討した全ての用量で、ミガーラスタットの十分な血漿中曝露量が得られていたことが確認された。ミガーラスタットの PK に一貫した性差は認められなかった。

In vitro で、ミガーラスタットの血漿タンパク結合率は極めて低く、動物及びヒトでは広範な血漿中濃度範囲で非結合率は 88%～122%であった。^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩を用いたラットの組織分布試験では、放射能は全身に広く分布し、血漿中に比べて血液中からの消失は遅かった。同試験で、脳中濃度は投与 4 時間後に最大値を示し、投与 1 時間後に血液中濃度の約 13%まで達したことから、ミガーラスタットは血液－脳関門を通過することが示唆された。また、ラットで

胎盤通過性が認められ、投与 1 時間後の胎児の血漿中濃度は母動物の血漿中濃度の 6%～11%であった。さらに、ラットで乳汁移行性が認められ、投与 4 時間後では乳汁中濃度は血漿中濃度に比べて 2.5～8.1 倍高かった。

In vitro で、ミガーラスタットはラット、サル又はヒト肝細胞中で代謝的に安定であった。^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩を用いた *in vivo* 代謝プロファイル試験により、ラット血漿、尿及び糞中の主要な放射能成分は未変化体であることが確認された。いずれの試料中でも代謝物ピークはわずかしか検出されず、投与量の 4.3%を超えるものはなかったため、代謝物同定は不可能又は必要ないと判断された。雌雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩を単回経口投与後、放射能は 24～48 時間以内に主に糞中及び尿中にそれぞれ投与放射能の 51%～67%及び 17%～38%が排泄され、ミガーラスタットの主要排泄経路は糞中であることが示された。これらの結果から、ミガーラスタットの消失に対する代謝の寄与はわずかであると結論付けられた。

ミガーラスタットは、ヒト肝ミクロソームにおいて CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4/5 を *in vitro* で著しく阻害せず、ヒト肝細胞において CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導しなかった。また、ミガーラスタットはヒト肝細胞中で代謝的に安定であったことから、CYP によって代謝されないことが示唆された。これらの結果から、肝臓での CYP を介した臨床的に重要な薬物間相互作用は生じないことが示唆された。ミガーラスタットは、排出トランスポーターである乳がん耐性タンパク質（BCRP）、P-糖タンパク質（P-gp、別名：MDR1）及び Bile salt export pump（BSEP）並びに取り込みトランスポーターである Organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3、Organic anion transporter（OAT）1、OAT3、Organic cation transporter（OCT）1、OCT2、Multidrug and toxin extrusion protein（MATE）1 及び MATE2-K を阻害しなかった。また、ミガーラスタットは BCRP、P-gp、MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質ではなかった。さらに、ミガーラスタットは、消化管のグルコース吸収を制御する SGLT である SGLT1 に対して低親和性ではあるものの基質／阻害剤であることが示された。一方、SGLT2 の基質／阻害剤ではなかった。これらの結果から、トランスポーターを介した臨床的に重要な薬物間相互作用は生じないことが示唆された。

以上より、ミガーラスタットの ADME 及び TK に関して、臨床治療薬としての開発に支障をきたすような問題は、非臨床試験動物では認められなかったと結論付けられた。

2　分析法

2.1　非標識体

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルでのミガーラスタット濃度は、バリデーション済みの LC-MS/MS 法により測定した。本法のバリデーションは全て、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。分析法バリデーションの最小要件として、真度、精度、選択性、感度、マトリックス効果、様々な条件下での安定性、前処理後試料の安定性及び検量線等を評価した。また、回収率、標準原液の安定性及び希釈の妥当性についても、補足的に評価した。

2.1.1　LC-MS/MS 法を用いた血漿中ミガーラスタット定量法

（試験番号 AA94546-01、添付資料番号 4.2.2.1.1、評価資料）
（試験番号 AA95776-01、添付資料番号 4.2.2.1.2、評価資料）
（試験番号 AA03717-01、添付資料番号 4.2.2.1.3、評価資料）
（試験番号 AA26519-01、添付資料番号 4.2.2.1.4、評価資料）
（試験番号 AA05331-01、添付資料番号 4.2.2.1.5、評価資料）
（試験番号 AA19858-01、添付資料番号 4.2.2.1.6、評価資料）

LC-MS/MS 法を用いた血漿中ミガーラスタット定量法を開発した。抗凝固薬として、ウサギ血漿ではエチレンジアミン四酢酸、その他全ての動物種ではエチレンジアミン四酢酸三カリウム塩を使用した。本法では、内標準物質として同位体標識したミガーラスタット塩酸塩（^{13}C-d_2-AT1001）を用い、マウス血漿では除タンパク後、その他全ての動物種では固相抽出後に LC-MS/MS 法により分析した。

マウス血漿を用いて、LC-MS/MS 法を用いたバリデーション試験を 2 試験実施した。最初の試験（試験番号 AA94546-01）では LLOQ を 10.0 µg/mL、2 回目の試験（試験番号 AA95776-01）では LLOQ を 50.0 ng/mL として、本法をバリデートした（いずれも血漿量は 0.025 mL）。また、ラット血漿（試験番号 AA03717-01）、ウサギ血漿（試験番号 AA26519-01）、イヌ血漿（試験番号 AA05331-01）、サル血漿（試験番号 AA19858-01）中のミガーラスタット濃度測定のため、同じ LC-MS/MS 法を用いてバリデーション試験を実施した。0.025 mL の血漿を用いた際の LLOQ は、ラット、ウサギ、イヌ及びサルでそれぞれ 29.5、40.0、29.4 及び 50.0 ng/mL であった。これら LLOQ は、非臨床試験においてミガーラスタットの PK 及び TK を十分に評価できる値であった。ミガーラスタットは、-80°C で保存した場合、マウス及びラット血漿中でそれぞれ 398 及び 251 日間安定であり、-20°C で保存した場合はラット、ウサギ、イヌ及びサル血漿中でそれぞれ 311、12、62 及び 466 日間安定であった。また、室温で保存した場合、ミガーラスタットはマウス血漿中で 52 時間安定であり、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中では 24～26 時間、サル血漿中では 171 時間安定であった。分析法バリデーションに関する詳細は、2.6.5.2 項に記載した。

マウス及びラット血漿中ミガーラスタット定量法について、TK で得られた試料を用いて Incurred Sample Reanalysis（ISR）を実施した。マウス 28 日間経口投与容量設定試験（試験番号 ITR70575）、マウス 26 週間がん原性試験（試験番号 ITR70576）、ラット 104 週間がん原性試験

（試験番号 G4970）及びラット出生前及び出生後の発生に関する経口投与試験（試験番号 AA94762）で得られた試料を用いて ISR を実施したが、いずれの結果も許容基準（少なくとも 3 分の 2 以上の試料において乖離度が ± 20%以内）を満たした。

2.1.2　LC-MS/MS 法を用いた乳汁中ミガーラスタット定量法

（試験番号 AA95411-01、添付資料番号 4.2.2.1.7、評価資料）

血漿試料の定量法として開発及びバリデートされた LC-MS/MS 法を用いて、ラット乳汁中ミガーラスタット定量法のバリデーション試験を実施した（試験番号 AA95411-01）。本法では、固相抽出後に LC-MS/MS 法により分析した。

0.025 mL の乳汁を用いた際の LLOQ は 29.4 ng/mL であった。ラット乳汁中ミガーラスタットは、-20°C 及び-80°C で保存した場合、それぞれ 63 及び 59 日間安定であった。また、室温で保存した場合、50 時間安定であり、6 回の凍結融解後も安定であった。分析法バリデーションに関する詳細は、2.6.5.2 項に記載した。

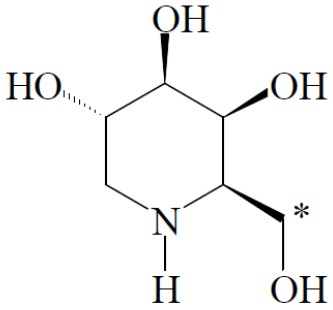
ラット乳汁中ミガーラスタット定量法について、ラット出生前及び出生後の発生に関する経口投与試験（試験番号 AA94762）で得られた試料を用いて ISR を実施したが、許容基準（少なくとも 3 分の 2 以上の試料において乖離度が ± 20%以内）を満たした。

2.2　標識体

2.2.1　標識化合物

PK 試験で使用した ^{14}C-ミガーラスタットの構造及び標識位置を図 2.6.4 - 1 に、比放射活性及び放射化学的純度を表 2.6.4 - 1 に示す。

図 2.6.4 - 1　^{14}C-ミガーラスタットの構造式



*Denotes ^{14}C label position

表 2.6.4 - 1　^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩の比放射活性及び放射化学的純度

Lot Number	Specific activity	Radiochemical purity	Study Number
XPY-MDSPSRS-VII-143	23.8 mCi/mmol	100%	0332-145-02 XBL08605 0332-145-01 07625

2.2.2　分析法

分布及び排泄試験における試料中放射能濃度は、液体シンチレーションカウンターにより測定した。代謝試験で得られた試料は、ラジオ高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及びマイクロプレートカウンターにより測定した。

3　吸収

3.1　*In vitro*

3.1.1　　Caco-2 透過性

3.1.1.1　　溶解性、Caco-2 単層膜細胞透過性及び耐容性

（試験番号 7AMICP1、添付資料番号 4.2.2.2.1、評価資料）

本試験は、水に対する溶解性、双方向膜透過性及び Caco-2 単層膜細胞の耐容性を評価するために実施した（2.6.5.3.A 項）。

水に対する溶解性試験の結果、pH 2.0 及び 7.4 でミガーラスタット塩酸塩の溶解度は 1 mg/mL 超であると考えられた。また、Caco-2 単層膜細胞は 10 mmol/L のミガーラスタット塩酸塩で 60 分間にわたって耐容性を有することが示された。ミガーラスタット塩酸塩 100 µmol/L でのみかけの透過性（P_{app}）は $0.613 \pm 0.398 \times 10^{-6}$ cm/s であり、ヒトでの吸収が 90%であるピンドロール及びミノキシジルの P_{app}（それぞれ $22.3 \pm 3.21 \times 10^{-6}$ 及び $5.33 \pm 1.45 \times 10^{-6}$ cm/s）と比較してかなり低かったため、ミガーラスタットは高膜透過性とは考えられなかった。頂端膜側から基底膜側への P_{app} に対する基底膜側から頂端膜側への P_{app} の比は 0.65 であり、膜透過性の非対称性は生物学的に重要ではないことが示された。無細胞系でのミガーラスタットの回収率はほぼ 100%であり、ミガーラスタットの非特異的結合はほとんど生じないことが示された。生物薬剤学分類システムによると、ミガーラスタット塩酸塩は高膜透過性には分類されていない。

3.1.1.2　　エチレングリコールビス四酢酸処理した Caco-2 単層膜細胞透過性

（試験番号 9AMICP2、添付資料番号 4.2.2.2.2、評価資料）

In vivo では経口投与後のミガーラスタットの吸収の程度が高いため、7AMICP1 試験で得られたミガーラスタットの Caco-2 単層膜細胞での膜透過性が低いという結果は予想に反するものであった。この原因として、ミガーラスタットのように高極性であり傍細胞経由で吸収されると考えられる化合物は、生理学的条件と比較して Caco-2 単層膜細胞では吸収に対する高いバリアが存在している可能性があるという仮説を立てた。その根拠として、密着結合の間隙率を示す指標である経上皮電気抵抗（TEER）値は薬物の吸収が傍細胞経由か膜輸送かを決める因子であるが、非生理学的条件下である Caco-2 単層膜細胞アッセイのときと比較して、ヒト腸管上皮では TEER 値が有意に低いことが報告されている（Collett et al, 1996）。したがって、Caco-2 単層膜細胞を用いた 7AMICP1 試験では TEER 値が高くなり、アテノロール等の傍細胞経由で吸収される高極性化合物の透過性は低く算出されていたと考えられた。そこで、7AMICP1 試験では傍細胞経由の取り込みが制限されていたため、ミガーラスタットの透過性が予想より低くなったという仮説を検証するため、ヒトの腸と同程度の低い TEER 値で Caco-2 単層膜細胞を用いたアッセイを再実施した。TEER 値を下げるため、培地にカルシウムキレート剤であるエチレングリコールビス四酢酸（EGTA）を 2.5 mmol/L 添加し、15 分間培養した。ミガーラスタット塩酸塩

（50 µmol/L）及び 3 種類の対照物質（ルシファーイエロー、アテノロール及びプロプラノロール）を頂端膜側に添加した（2.6.5.3.B 項）。

その結果、EGTA 処理なしの場合はミガーラスタット塩酸塩（50 µmol/L）の膜透過性は低く、基底膜側では濃度を測定することができなかったが、EGTA 処理ありの場合では膜透過性は著しく増加した（P_{app}：13.4×10^{-6} cm/s）。また、EGTA 処理によりルシファーイエローの膜透過性が EGTA 処理なしの場合に比べて顕著に増加し（P_{app}：0.19×10^{-6} から 2.06×10^{-6} cm/s に増加）、密着結合の間隙率が損なわれていることが確認された。さらに、アテノロールの膜透過性も顕著に増加したが（P_{app}：0.333×10^{-6} から 10.2×10^{-6} cm/s）、主に経細胞輸送により透過することが知られているプロプラノロールの透過性には影響を及ぼさなかった（P_{app}：21.6×10^{-6} から 27.1×10^{-6} cm/s）。

これらの結果から、EGTA 処理により、傍細胞経路を介してルシファーイエロー、アテノロール及びミガーラスタットの透過性は顕著に増加した可能性が示唆される。一方、主に経細胞経路を介して単層膜細胞を透過するプロプラノロールの膜透過性は、EGTA 処理しても明らかな影響を受けなかった。

3.2　*In vivo*

以下で考察する全ての PK/TK 試験では、特に断りのない限り、バリデーション済みの LC-MS/MS 法を用いてミガーラスタット濃度を測定し、PK パラメーターは WinNonLin 又は PhAST® 2.3-001 のノンコンパートメント解析により算出した。

3.2.1　単回投与

3.2.1.1　マウス

3.2.1.1.1　血漿中濃度推移、薬物動態パラメーター及び絶対的バイオアベイラビリティ

（試験番号 RR1001-08、添付資料番号 4.2.2.2.3、評価資料）
（試験番号 RR1001-35、添付資料番号 4.2.2.2.4、評価資料）

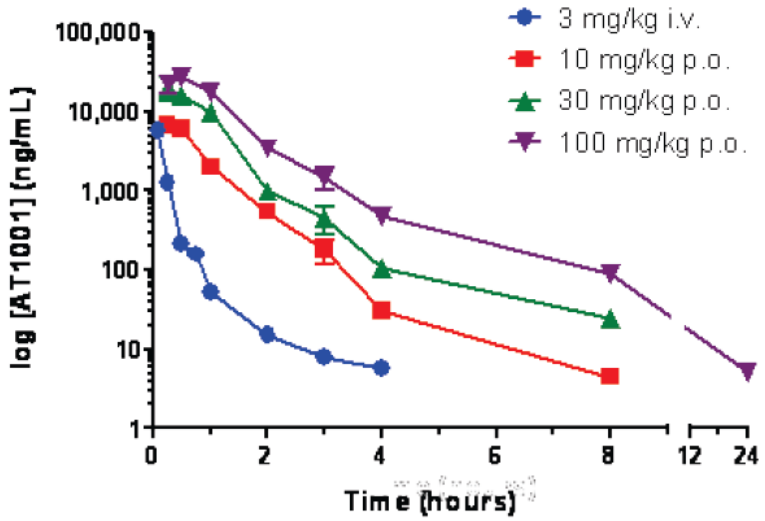
雄の野生型 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内投与又は強制経口投与後の PK を検討した（試験番号 RR1001-08；2.6.5.4.A 項）。

ミガーラスタット塩酸塩は生理食塩液に溶解し、3.66 mg/kg（遊離塩基換算で 3 mg/kg）の用量で尾静脈より静脈内投与した。また、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、12.2、36.6 及び 122 mg/kg（遊離塩基換算でそれぞれ 10、30 及び 100 mg/kg）の用量で強制経口投与した。静脈内投与 0.083、0.25、0.5、0.75、1、2、3、4、8 及び 24 時間後並びに経口投与 0.25、0.5、1、2、3、4、8 及び 24 時間後に、血液試料を採取した（3 匹／群／時点）。血漿中濃度推移を図 2.6.4 - 2 に示した。

ミガーラスタット塩酸塩 3.66 mg/kg を静脈内投与した際の総血漿クリアランス（CL）は 1.96 L/hr/kg で、糸球体ろ過率と近似していた。また、定常状態の分布容積（V_{ss}）は 0.42 L/kg と、体内総水分量（約 0.7 L/kg）未満であり、$t_{1/2}$ は 0.94 時間であった。ミガーラスタット塩酸塩

12.2、36.6 及び 122 mg/kg を経口投与後、血漿中濃度は速やかに最高血漿中濃度（C_{max}）に到達し、t_{max} は 15～30 分、C_{max} はそれぞれ 6.78、20.2 及び 27.1 µg/mL（それぞれ 42、124 及び 166 µmol/L に相当）であった。ミガーラスタット塩酸塩 12.2、36.6 及び 122 mg/kg を経口投与後の AUC_{0-t} は、それぞれ 5.9、18.4 及び 33.5 µg•hr/mL であり、高用量ではその増加率は用量比を下回った。ミガーラスタット塩酸塩 12.2、36.6 及び 122 mg/kg 経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティは、それぞれ 116%、121%及び 66%であった。ミガーラスタット塩酸塩 122 mg/kg 経口投与後の $t_{1/2}$ は 3.26 時間であり、静脈内投与後と比較して顕著に遅延した。

図 2.6.4 - 2　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内及び経口投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移



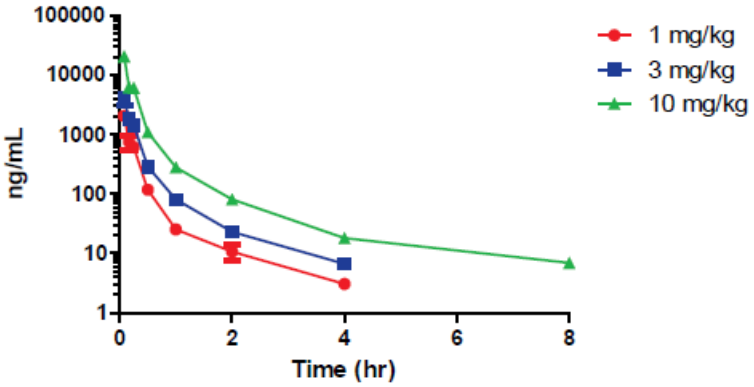
Dose was expressed as free base.
3, 10, 30 and 100 mg/kg were equivalent to 3.66, 12.2, 36.6 and 122 mg/kg as migalastat hydrochloride.
Each point in graph represents the mean ± standard error of the mean from 3 mice.
Source: RR1001-08, Figure 1

雄の野生型 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内投与又は強制経口投与後の PK を評価した（試験番号 RR1001-35；2.6.5.4.B 項）。ミガーラスタット塩酸塩は生理食塩液に溶解し、1.22、3.66 及び 12.2 mg/kg（遊離塩基換算でそれぞれ 1、3 及び 10 mg/kg）の用量で尾静脈より静脈内投与した。また、ミガーラスタット塩酸塩を水に溶解し、3.66、12.2、36.6 及び 122 mg/kg（遊離塩基換算でそれぞれ 3、10、30 及び 100 mg/kg）の用量で強制経口投与した。静脈内投与の場合は 0、5、10、15 及び 30 分並びに 1、2、4、8 及び 24 時間後、経口投与の場合は 0、15、30 及び 45 分並びに 1、2、4、8 及び 24 時間後に血液試料を採取した（4 匹／群／時点）。静脈内及び経口投与後の血漿中濃度推移をそれぞれ図 2.6.4 - 3 及び図 2.6.4 - 4 に示した。

AUC_{0-t} 及び C_{max} は、静脈内投与及び経口投与のいずれでも 12.2 mg/kg までほぼ線形的に増加したが、高用量（36.6 及び 122 mg/kg）で経口投与後の AUC_{0-t} 及び C_{max} の増加率は用量比を下回る傾向が認められた。3.66 mg/kg 及び 12.2 mg/kg で経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティはそれぞれ 120%及び 78%であり、より高用量の 36.6 mg/kg 及び 122 mg/kg で経口投与時ではそれぞれ 47%及び 41%であった。ミガーラスタット塩酸塩静脈内投与後の CL は 1.7～2.5 L/hr/kg と低

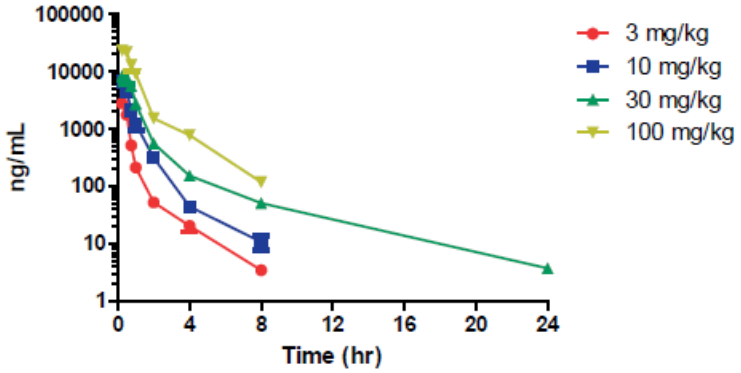
く、肝血流量の約 3 分の 1 であった。V_{ss} は 0.4～0.8 L/kg と低～中等度で、$t_{1/2}$ は約 1 時間であった。

図 2.6.4 - 3　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回静脈内投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移



Dose was expressed as free base.
1, 3 and 10 mg/kg were equivalent to 1.22, 3.66 and 12.2 mg/kg as migalastat hydrochloride.
Each point in graph represents the mean ± standard error of the mean from 4 mice.
Source: RR1001-35, Figure 1

図 2.6.4 - 4　雄 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血漿中ミガーラスタット濃度推移



Dose was expressed as free base.
3, 10, 30 and 100 mg/kg were equivalent to 3.66, 12.2, 36.6 and 122 mg/kg as migalastat hydrochloride.
Each point in graph represents the mean ± standard error of the mean from 4 mice.
Source: RR1001-35, Figure 2

3.2.2　反復投与

3.2.2.1　マウス

3.2.2.1.1　28 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR70575、添付資料番号 4.2.3.2.1、評価資料）

CByB6F1 マウスを用いた 28 日間経口投与用量設定試験の一環として、TK 評価を行った。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg/日（遊離塩基換算）の用量で 1 日 1 回 28 日間強制経口投与した（2.6.5.5.A 項）。溶媒対照群では第 28 日の投与 0.5 時間後に、ミガーラスタット塩酸塩投与群では第 28 日の投与 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 匹／群／時点）。

ミガーラスタットは速やかに吸収され、速やかに消失した。500 及び 1000 mg/kg/日群では消失相で LLOQ 超であった測定時点がほとんどなかったため、$t_{1/2}$ は 2000 mg/kg/日群でのみ算出可能であり、約 3.25 時間と推定された。t_{max} は 500 及び 1000 mg/kg/日群で 0.5 時間、2000 mg/kg/日群で 1 時間であった。$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は、1000 及び 2000 mg/kg/日群では雄と比較して雌で高かったが、全体を通して血漿中ミガーラスタット濃度（平均値）の変動係数が最大 62%と比較的大きかったことを考慮すると、$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} の性差に毒性学的意義はないと考えられた。$AUC_{0\text{-}t}$ は 500～1000 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量比例的に増加し、1000～2000 mg/kg/日では増加率は用量比をわずかに上回った。500 mg/kg/日群と 1000 mg/kg/日群で C_{max}（雌雄合算値）は同程度であったが、用量が高いほど後半の測定時点でも定量可能なデータが多く得られたため、$AUC_{0\text{-}t}$ は増加した。C_{max} は雌雄ともに用量が高いほど高値を示したが、増加率は用量比を下回った。$t_{1/2}$ に基づくと、投与間隔あたりの最大総曝露量（定常状態）は、2000 mg/kg/日群の雌雄で 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）は 444 µg•hr/mL と算出された。投与 24 時間後の濃度は LLOQ 未満であったことから、反復投与による蓄積はごくわずかであると考えられた。見かけ上の総血漿クリアランス（CL/F）及び見かけ上の分布容積（V_z/F）は 2000 mg/kg/日群でのみ評価可能であったが、血漿中濃度データのばらつきの大きさを考慮すると、雌の値と雌雄合算値は同程度と考えられた。

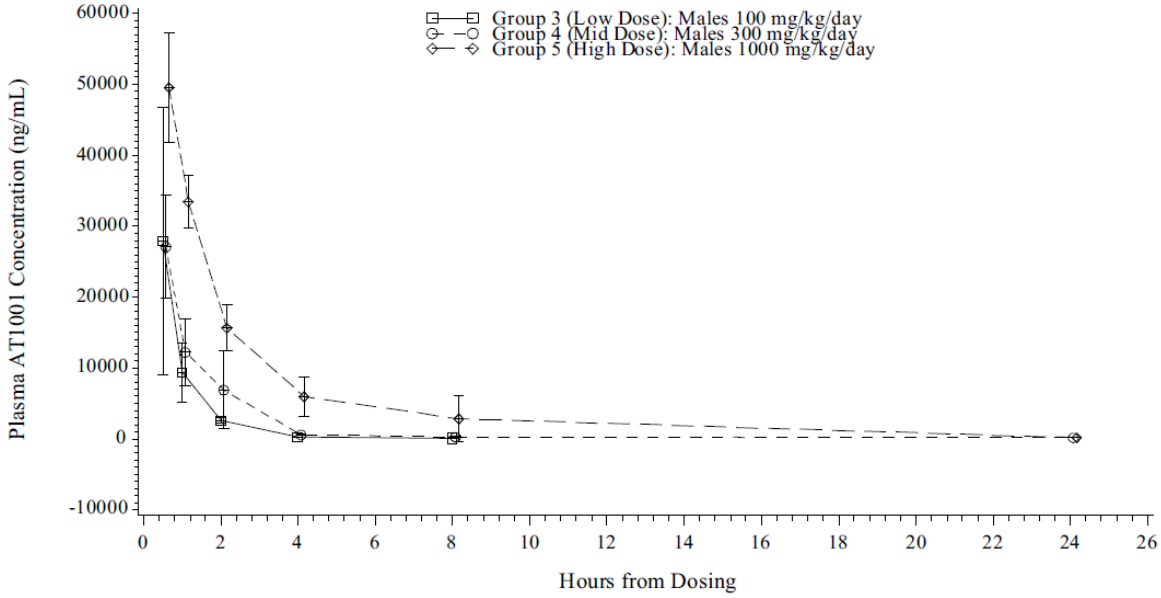
3.2.2.1.2　　26 週間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR70576、添付資料番号 4.2.3.4.1.1、評価資料）

トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験の一環として、野生型 CByB6F1 マウスを用いた TK 評価を行った（2.6.5.5.B 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、雄には 0、100、300 及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算）、雌には 0、50、150 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算）の用量で 1 日 1 回 26 週間強制経口投与した。溶媒対照群では第 182 日の投与 0.5 時間後に、ミガーラスタット塩酸塩投与群では第 182 日の投与 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 匹／群／時点）。第 26 週での雄及び雌の血漿中濃度推移をそれぞれ図 2.6.4 - 5 及び図 2.6.4 - 6 に示した。

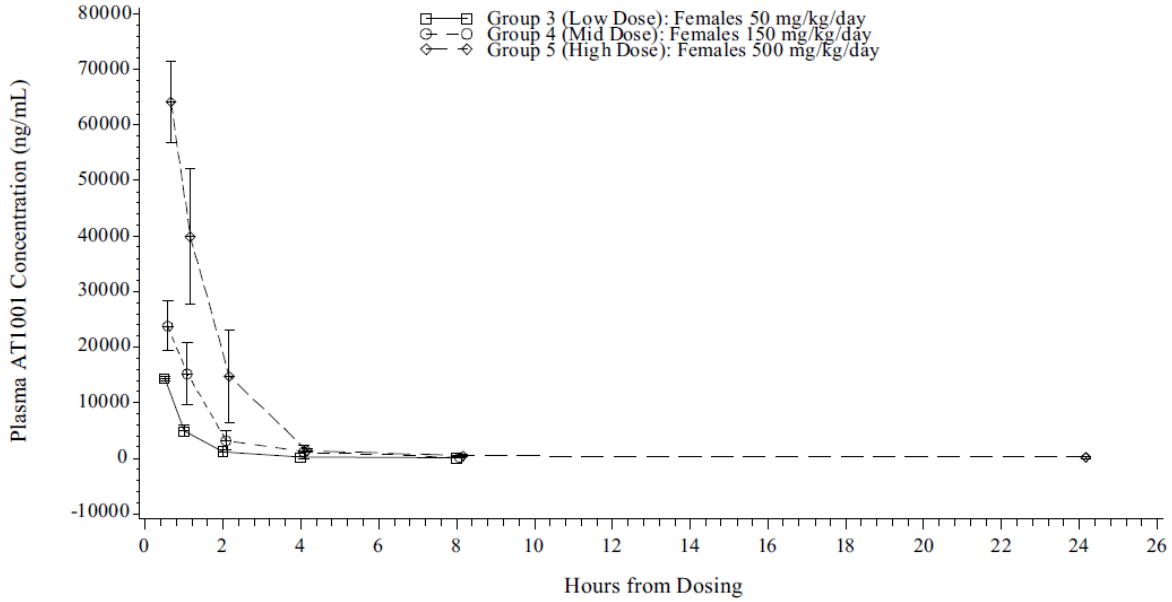
ミガーラスタットは速やかに吸収され、t_{max} は 0.5 時間であった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は雌雄ともに用量依存的に増加したが、その増加率は概して用量比を下回った。終末消失相のデータが得られなかったため、見かけ上の消失速度を算出することができなかった。中用量群及び高用量群において、用量（mg/kg）で補正した曝露量は雄より雌で高かった。投与 24 時間後の血漿中濃度は、検討した用量範囲で雌雄ともに大半が LLOQ（50 ng/mL）付近又は LLOQ 未満であったことから、ミガーラスタットの明らかな蓄積性は示唆されなかった。

図 2.6.4 - 5　雄 CByB6F1 マウスでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 1 回反復経口投与後の第 26 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移



Dose was expressed as free base.
Each point in graph represents the mean ± standard deviation from 3 mice.
Source: ITR70576, Appendix 8, Pre-clinical Toxicokinetic Study Report Figure 1

図 2.6.4 - 6　雌 CByB6F1 マウスにミガーラスタット塩酸塩 1 日 1 回反復経口投与後の第 26 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移



Dose was expressed as free base.
Each point in graph represents the mean ± standard deviation from 3 mice.
Source: ITR70576, Appendix 8, Pre-clinical Toxicokinetic Study Report Figure 3

3.2.2.2　　ラット

3.2.2.2.1　　5 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR5881、添付資料番号 4.2.3.2.2、参考資料）

Sprague-Dawley ラットを用いた 5 日間経口投与用量設定試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.C 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で 1 日 1 回 5 日間強制経口投与した。第 5 日の投与前、投与 5、15 及び 30 分並びに 1、4、8 及び 12 時間後に、ミガーラスタット塩酸塩投与群の動物から TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 2 匹／群）。

$AUC_{0\text{-}t}$は雌雄で同程度であった。C_{max}はいずれの用量でも雄と比較して雌でわずかに高かったが、その差は 1.4 倍以内であったことから、検討した用量での全身曝露量は雌雄で同程度であると考えられた。$AUC_{0\text{-}t}$（雌雄合算値）の増加率は、100～500 mg/kg/日の用量範囲では用量比を下回ったが、500～1500 mg/kg/日の用量範囲では用量比例的に増加した。C_{max}（雌雄合算値）の増加率は、検討した全ての用量範囲で用量比を下回った。

3.2.2.2.2　　14 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR5850、添付資料番号 4.2.3.2.3、評価資料）

Sprague-Dawley ラットを用いた 14 日間経口投与毒性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.D 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で 1 日 1 回 14 日間強制経口投与した。第 1 日（初回投与日）及び第 14 日の投与前、投与 0.5、1、2、4、6、8、12、18 及び 24 時間後に、ミガーラスタット塩酸塩投与群の動物から TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 匹／群／時点）。

検討した用量範囲で$AUC_{0\text{-}t}$の性差は 1.3 倍以内であり、概して雌雄で同程度であった。

雌雄のデータを合算すると、第 1 日では 100～500 mg/kg/日の用量範囲、第 14 日では 100～1500 mg/kg/日の用量範囲で、$AUC_{0\text{-}t}$の増加率は用量比を下回った。第 1 日の$AUC_{0\text{-}t}$は、500～1500 mg/kg/日の用量範囲で用量比例的に増加した。第 1 日及び第 14 日のC_{max}の増加率は、100～1500 mg/kg/日の用量範囲で用量比を下回った。100～1500 mg/kg/日の用量範囲では$AUC_{0\text{-}t}$から算出した蓄積比は 1.3 倍以内であり、明らかな蓄積は認められなかった。

3.2.2.2.3　　雄ラット受胎能試験（TK 試験）

（試験番号 AA31159、添付資料番号 4.2.3.5.1.2、評価資料）

Sprague-Dawley ラットを用いた雄受胎能試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.E 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、2.5、10 及び 25 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 2.05、8.2 及び 20.5 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、1.25、5 及び 12.5 mg/kg（遊離塩基換算で 1.02、4.1 及び 10.2 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］強制経口投与した。投与は、交配前 4 週間から交配期間 3 週間（無処置の雌と交配）を通して剖検前日までとした（合計 9 週間以上）。交配期間終了後の第 50 日の投与 0.5、2、6（2 回目投与前）、7 及び

12 時間後に、溶媒対照群及びミガーラスタット塩酸塩投与群の動物から TK 評価用の血液試料を採取した（各 4 匹／群／時点）。

血液採取時点が限られていたものの、2.5～25 mg/kg/日の用量範囲では、1 日 2 回投与レジメンにおける 1 回目及び 2 回目投与後の最高血漿中濃度到達時間（t_{max1} 及び t_{max2}）はそれぞれ約 0.60 及び 7.00 時間であった。また、AUC_{0-t} 及び 1 日 2 回投与レジメンにおける 1 回目投与後の最高血漿中濃度（C_{max1}）は、検討した 2.5～25 mg/kg/日の用量範囲内で概して用量比例的に増加した。

3.2.2.2.4　　26 週間経口投与（TK 試験）

（試験番号 AA17017、添付資料番号 4.2.3.2.4、評価資料）

Sprague-Dawley ラットを用いた 26 週間経口投与毒性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.F 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、100、500 及び 1500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 82、410 及び 1230 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、50、250 及び 750 mg/kg（遊離塩基換算で 41、205 及び 615 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］26 週間強制経口投与した。第 0 日（初回投与日）、第 27 日（第 4 週）、第 90 日（第 13 週）及び第 181/182 日（第 26 週）に、溶媒対照群では投与 0.5、6（2 回目の投与前）及び 12 時間後に、ミガーラスタット塩酸塩投与群では投与前、投与 0.5、1、2、6（2 回目の投与前）、7、8、12 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 匹／群／時点）。第 181 日における血漿中濃度推移を図 2.6.4 - 7 に示した。

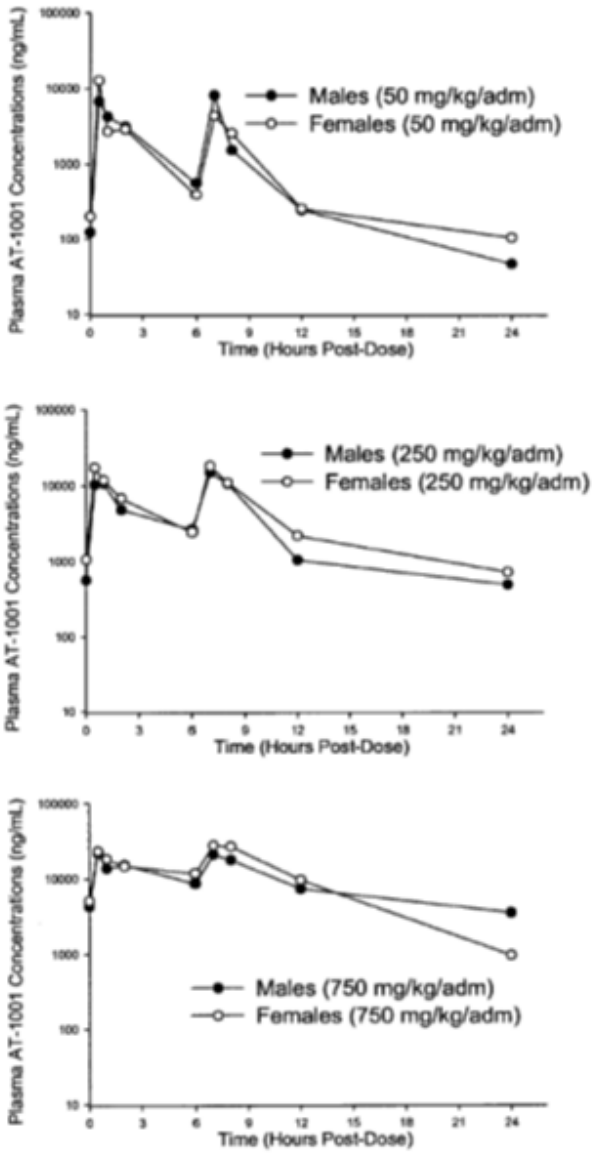
第 0 日のミガーラスタットの AUC_{0-t} の性差は 1.4 倍以内であり、検討した用量範囲では概して雌雄で同程度であると考えられた。C_{max1} の性差も 1.9 倍以内であり、検討した用量範囲において雌雄で概して同程度であると考えられた。

第 27 日、第 90 日及び第 181 日の AUC_{0-t} の性差は 1.5 倍以内であり、検討した用量範囲では概して雌雄で同程度であると考えられた。C_{max1} に一貫した性差はなく（性差は 1.9 倍以内）、検討した用量では概して雌雄で同程度である考えられた。

雌雄のデータを合算すると、100～1500 mg/kg/日の用量範囲では、第 0 日、第 27 日、第 90 日及び第 181 日の AUC_{0-t} 及び C_{max} の増加率は概して用量比を下回った。第 90 日及び第 181 日の $t_{1/2}$（雌雄合算値）は、それぞれ 4.62～7.06 時間及び 3.82～5.12 時間であった。

雌雄のデータを合算すると、ミガーラスタット塩酸塩 100、500 及び 1500 mg/kg/日を 1 日 2 回反復経口投与した時、第 27 日及び第 90 日に蓄積は認められなかったが、第 181 日ではそれぞれ約 28.7%、約 10.9%及び約 24.3%の蓄積が認められた。

図 2.6.4 - 7　雌雄 Sprague-Dawley ラットでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の第 181 日における血漿中ミガーラスタット濃度推移



Source: AA17017, Addendum 6, Toxicokinetic Report Figure 7

3.2.2.2.5　　104 週間経口投与（TK 試験）

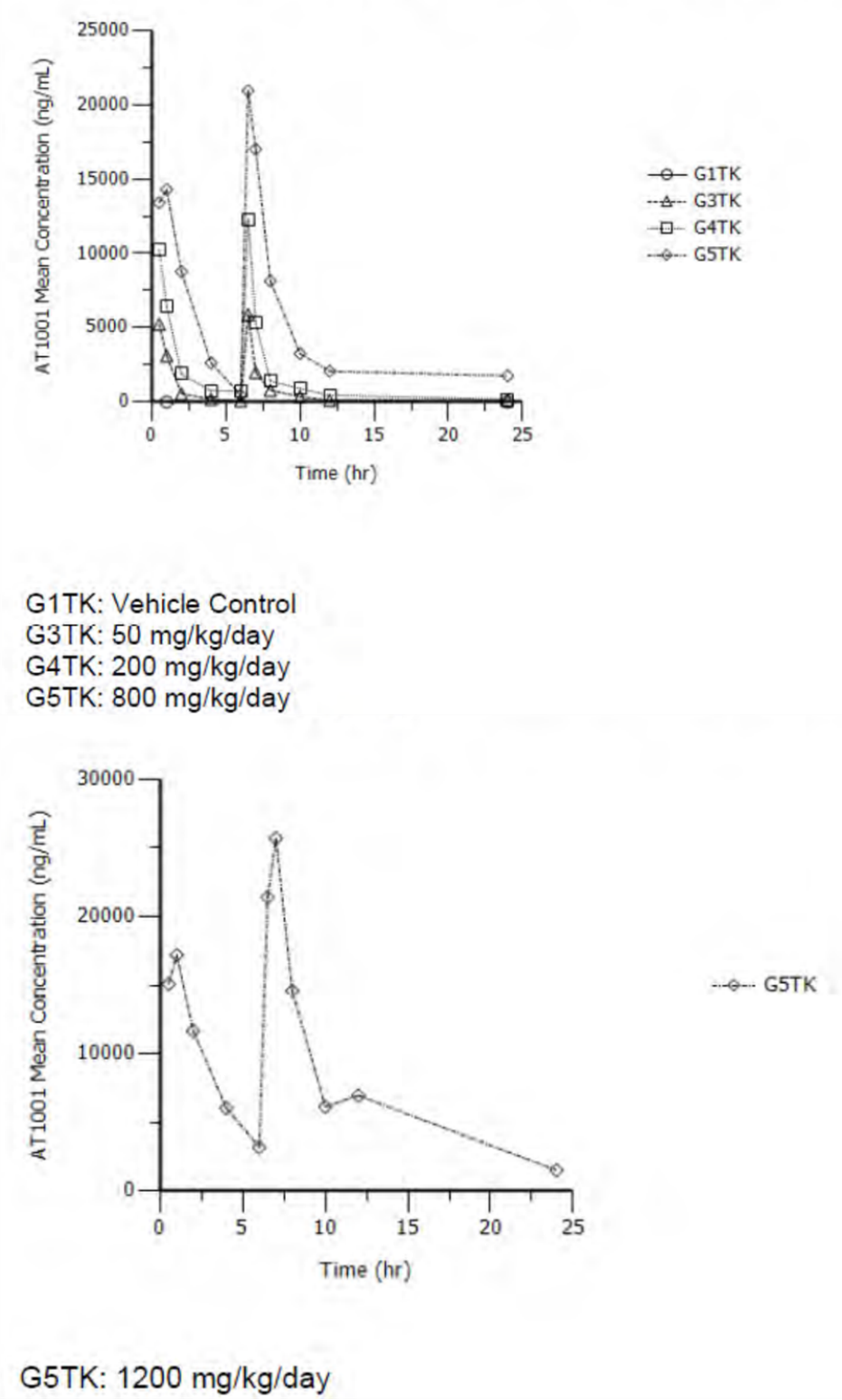
（試験番号 G4970、添付資料番号 4.2.3.4.1.2、評価資料）

Sprague-Dawley ラットを用いたがん原性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.G 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 800/1200 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 656/984 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、25、100 及び 400/600 mg/kg（遊離塩基換算で 20.5、82 及び 328/492 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］104 週間強制経口投与した。曝露量を増加させるため、第 36 週に最高用量を 800 mg/kg/日から 1200 mg/kg/日に増加した。これにより、ヒトにミガーラスタット塩酸塩を 150 mg の用量で隔

日投与した際の約 25 倍の AUC を得ることができると考えられた。ミガーラスタット塩酸塩投与群では、第 1 日（初回投与日：投与 0.5、1、2、6、7、8、12、24 時間後）、第 29 週（投与 0.5、1、2、4、6、6.5、7、8、10、12、24 時間後）及び第 37 週（高用量のみ：投与 0.5、1、2、4、6、6.5、7、8、10、12、24 時間後）に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 又は 6 匹／時点）。溶媒対照群では、各試料採取日の投与 1 及び 24 時間後に血液試料を採取した（雌雄各 10 匹／時点）。第 29 週及び第 37 週における血漿中濃度推移を図 2.6.4 - 8 に示した。

経口投与後、ミガーラスタットは速やかに吸収され、第 29 週及び第 37 週の t_{max} は 6.5～7 時間（2 回目投与 0.5～1 時間後）であった。AUC_{0-t} は第 1 日、第 29 週及び第 37 週で同程度であることから、反復投与による蓄積はほとんどなかった。第 1 日及び第 29 週では、全ての群で AUC_{0-t} 及び C_{max} の増加率は用量比を下回った。ただし、高用量群の用量を 800 mg/kg/日から 1200 mg/kg/日に 50%増加させると、AUC_{0-t} は約 70%増加した。$t_{1/2}$ は全ての群及び試験日で同程度であった。曝露量の増加率は用量比を下回ったため、CL/F は用量依存的に増加した。第 1 日及び第 29 週では、全ての群で雄と比較して雌で AUC_{0-t} がわずかに高い傾向が認められたが、性差は概して 1.3 倍以内であり、血漿中濃度のばらつきを考慮すると、生物学的な意義のある差ではないと判断された。

図 2.6.4 - 8　Sprague-Dawley ラットでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の第 29 週及び第 37 週における血漿中ミガーラスタット濃度推移



Concentrations are means of 3-6 Male/3-6 Female rats per time point; each animal was sampled at two time points.
Source: G4970, Appendix 19, Pre-clinical Toxicokinetic Study Report In-Text Figure 2 and 3

3.2.2.3　　ウサギ

3.2.2.3.1　　胚・胎児発生毒性試験（TK 試験）

（試験番号 AA26552、添付資料番号 4.2.3.5.2.3、評価資料）

New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児毒性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.H 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、120、300 及び 750 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 98、246 及び 615 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、60、150 及び 375 mg/kg（遊離塩基換算で 49、123 及び 307 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］、妊娠 6～19 日まで強制経口投与した。妊娠 6（初回投与日）及び 19 日の投与前、1 回目投与 1、2、6（2 回目の投与前）、8、12、16 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（各 3 匹／群）。

血漿中濃度推移の消失相が得られなかったため、妊娠 6 及び 19 日のいずれの動物においても $t_{1/2}$ を推定することができなかった。同様の濃度推移が非妊娠ウサギでも観察されたことから、これはウサギの TK の特徴であり、妊娠状態とは関連がないと考えられた。

妊娠 6 及び 19 日の t_{max1} は 1.00～1.67 時間であったが、t_{max2} は 8.00 時間（2 回目投与後の 2.00 時間）まで延長した。妊娠 6 日の AUC_{0-t} は、検討した用量範囲で概して用量比例的に増加した。C_{max1} は、検討した用量範囲で増加率は用量比を下回った。妊娠 19 日の用量比例性は、妊娠 6 日と類似した。また、妊娠 6 日と比較して妊娠 19 日の AUC_{0-t} に軽度の蓄積がみられた。

3.2.2.4　　イヌ

3.2.2.4.1　　5 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR6003、添付資料番号 4.2.3.2.5、参考資料）

ビーグル犬を用いた 5 日間経口投与用量設定試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.I 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で 1 日 1 回 5 日間強制経口投与した。第 1 日（初回投与日）及び第 5 日の投与前、投与 5、15 及び 30 分並びに投与 1、2、4、6、8 及び 12 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 1 匹／群）。

雌雄のデータを合算すると、検討した用量範囲で、第 1 日及び第 5 日の AUC_{0-t} 及び C_{max} の増加率は用量比を下回った。第 1 日の $t_{1/2}$ は 50 mg/kg/日と 500 mg/kg/日で同程度であり、それぞれ 2.94 時間及び 2.70 時間であった。また、500 mg/kg/日群の $t_{1/2}$ は第 1 日と第 5 日で同程度であり、それぞれ 2.70 時間及び 2.55 時間であった。雌雄のデータを合算すると、500 mg/kg/日の用量でミガーラスタットの蓄積（AUC_{0-inf} の約 25%の増加）が認められたが、50 及び 200 mg/kg/日で蓄積はなかった。

3.2.2.4.2　　14 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 ITR2978、添付資料番号 4.2.3.2.6、評価資料）

ビーグル犬を用いた 14 日間経口投与毒性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.J 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で 1 日 1 回 14 日間強制経口投与した。第 1 日（初回投与日）及び第 14 日の投与前並びに投与 0.5、1、1.5、2、2.5、4、6、8、12、18 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 3 匹／群）。

第 1 日及び第 14 日のミガーラスタットの全身曝露量は、検討した用量範囲では一貫した性差は認められなかった。

雌雄のデータを合算すると、検討した用量範囲では第 1 日及び第 14 日の AUC_{0-t} の増加率は概して用量比を下回った。t_{max} は 1.4～1.9 時間であった。検討した用量範囲内において、第 1 日及び第 14 日の $t_{1/2}$ はいずれの用量でも同程度であった。第 1 日及び第 14 日の $t_{1/2}$（雌雄合算値）はそれぞれ 4.3～5.3 時間及び 4.5～6.2 時間であった。雌雄のデータを合算すると、AUC_{0-t} から算出した蓄積比は 0.940～1.10 であり、1 日 1 回反復経口投与によるミガーラスタットの蓄積は示されなかった。

3.2.2.5　サル

3.2.2.5.1　14 日間経口投与（TK 試験）

（試験番号 AA17225、添付資料番号 4.2.3.2.7、評価資料）

カニクイザルを用いた 14 日間経口投与用量設定試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.K 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、25、100 及び 250 mg/kg（遊離塩基換算で 20.5、82 及び 205 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］14 日間強制経口投与した。第 0 日（初回投与日）及び第 12 日の投与前並びに投与 0.5、1、1.5、2、3、5、6（2 回目投与前）、6.5、7、8、9、10、12、16、18 及び 24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した（雌雄各 1 匹／群）。

第 0 日及び第 12 日のミガーラスタットの AUC_{0-t} 及び C_{max1} は、検討した用量範囲において一貫した性差は認められず、概して雌雄で同程度であった。

雌雄のデータを合算すると、第 0 日及び第 12 日の AUC_{0-t} 及び C_{max1} は 50～200 mg/kg/日で用量比例的に増加した。第 0 日では、200～500 mg/kg/日の用量範囲で AUC_{0-t} の増加率は用量比を下回り、第 12 日では 200 及び 500 mg/kg/日で同程度であった。C_{max1} は、第 0 日及び第 12 日ともに 200～500 mg/kg/日の用量範囲で同程度であった。第 0 日及び第 12 日ともに 50～500 mg/kg/日の用量範囲内で、$t_{1/2}$ は概して同程度であった。

検討した用量範囲では、1 日 2 回反復経口投与によるミガーラスタットの蓄積は認められなかった。

3.2.2.5.2　39 週間経口投与（TK 試験）

（試験番号 AA17227、添付資料番号 4.2.3.2.8、評価資料）

カニクイザルを用いた 39 週間経口投与毒性試験の一環として、TK 評価を行った（2.6.5.5.L 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 500 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 410 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、25、100 及び 250 mg/kg（遊離塩基換算で 20.5、82 及び 205 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］39 週間強制経口投与した。第 0 日（初回投与日）、第 22 日（第 4 週）、第 84 日（第 13 週）、第 175 日（第 26 週）及び第 267/268 日（第 39 週）の投与前並びに投与 1、2、4、6（2 回目投与前）、8、12 及び 24 時間後に、全ての動物から TK 評価用の血液試料を採取した。表 2.6.4 - 2 に示す通り、試験途中で動物を屠殺したため、動物数は各採取時点で異なった。

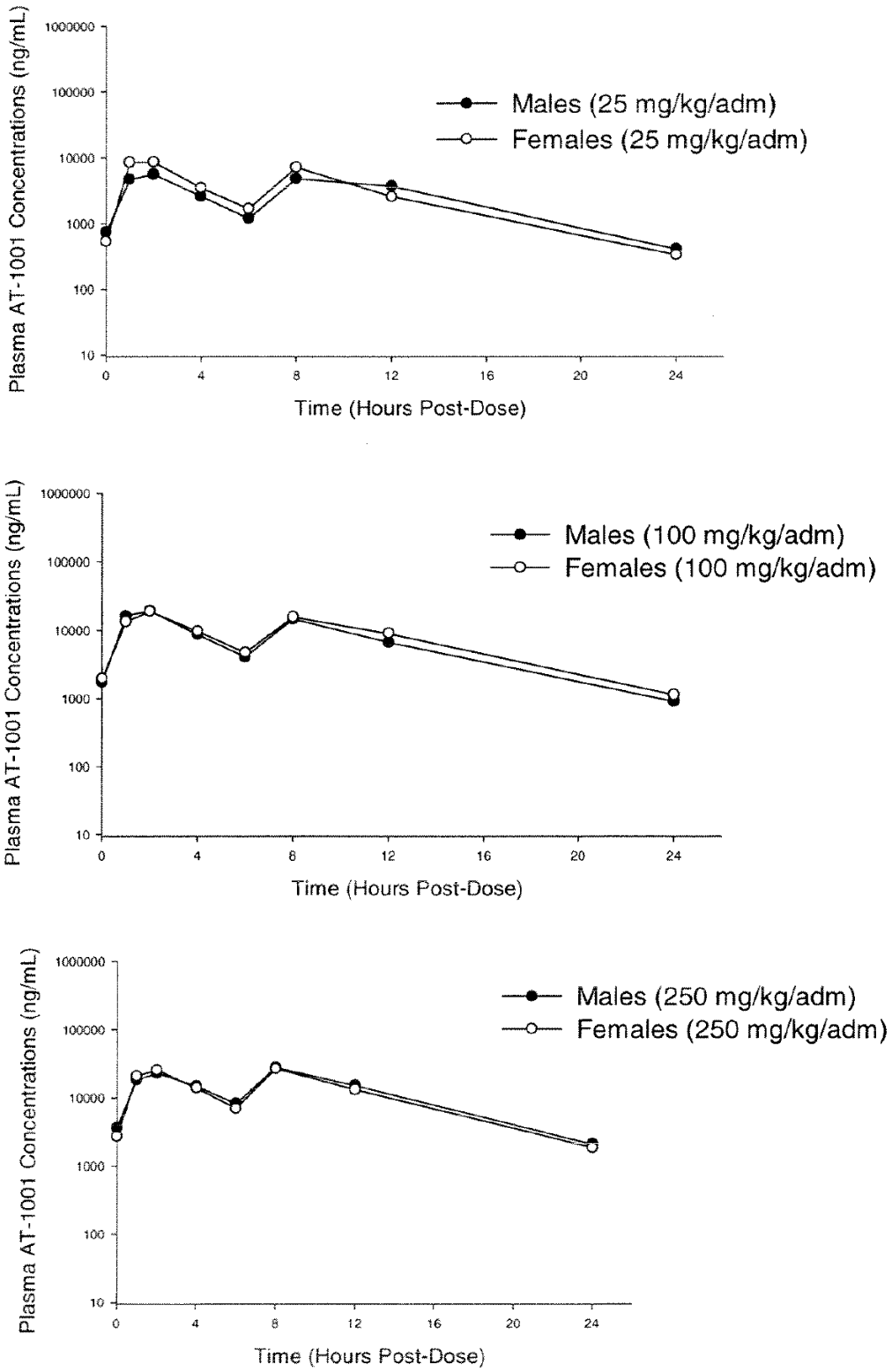
表 2.6.4 - 2　サルでの 39 週間経口投与試験における各 TK 試料採取時期での動物数

Dose (mg/kg/day)	Day 0	Day 22 (Week 4)	Day 84 (Week 13)	Day 175 (Week 26)	Day 267/268 (Week 39)
0	11/sex	11/sex	11/sex	8/sex	6/sex
50	9/sex	9/sex	9/sex	6/sex	4/sex
200	9/sex	9/sex	9/sex*	6/sex	4/sex
500	11/sex	11/sex	11/sex	8/sex	6/sex

* female: n = 8

第 267/268 日における血漿中濃度推移を図 2.6.4 - 9 に示した。検討した用量範囲では、ミガーラスタットの全身曝露量には、性差は概して認められなかった。雌雄ともに検討した用量範囲では、$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max1} の増加率は、概して用量比を下回った。雌雄ともに、1 日 2 回反復経口投与よるミガーラスタットの蓄積は認められなかった。

図 2.6.4 - 9　カニクイザルでのミガーラスタット塩酸塩 1 日 2 回反復経口投与後の第 267/268 日における血漿中ミガーラスタット濃度推移



Source: AA17227, Addendum 6, Toxicokinetic Report Figure 9

4　分布

4.1　*In vitro*

4.1.1　　血漿タンパク結合

4.1.1.1　　マウス、ラット、サル及びヒト血漿タンパク結合

（試験番号 0332-145-02、添付資料番号 4.2.2.3.1、評価資料）

CD-1 マウス、Sprague-Dawley ラット、カニクイザル及びヒト血漿中でのミガーラスタットのタンパク結合を評価した（2.6.5.6 項）。終濃度が 1、10 又は 100 µmol/L となるように ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩を血漿に添加し、96 ウェル平衡透析プレートを用いて 37 ± 1°C で 4 及び 24 時間インキュベーションした。陽性対照として、^{14}C-カフェイン、^{14}C-リドカイン及びワルファリン（10 µmol/L）を使用した。平衡透析プレートのドナー側に血漿、アクセプター側にリン酸緩衝生理食塩液を入れた。液体シンチレーションカウンターを用いて、血漿及びリン酸緩衝生理食塩液中の放射能を測定した。

4 時間では平衡に到達しなかったが、24 時間までに平衡に達したことが示されたため、被験物質及び対照物質の血漿タンパク結合は 24 時間でのデータから算出した。対照物質の血漿タンパク結合率から本実験系の妥当性が示された。CD-1 マウス、Sprague-Dawley ラット、カニクイザル及びヒトの血漿中における非結合率は 88%～122%であり、ミガーラスタットは血漿タンパク質にほとんど結合しないことが示された。

4.2　*In vivo*

4.2.1　　マウスでの組織内分布

（試験番号 RR1001-08、添付資料番号 4.2.2.2.3、評価資料）

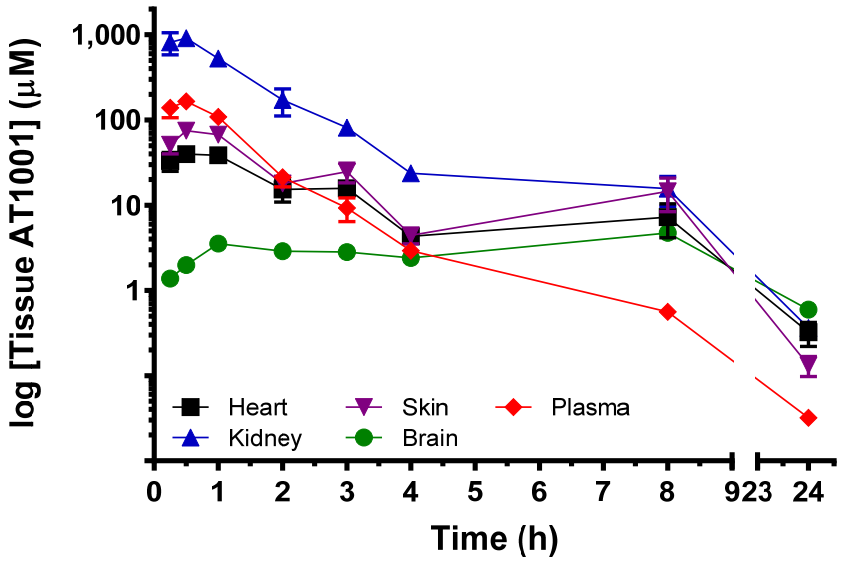
雄の野生型 C57BL/6 マウスにおける疾患と関連する組織中でのミガーラスタットの分布を評価した（2.6.5.7.A 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、122 mg/kg/日（遊離塩基換算で 100 mg/kg/日）の用量で単回強制経口投与した。経口投与 0.25、0.5、1、2、3、4、8 及び 24 時間後に組織試料（心臓、腎臓、脳、皮膚）を採取した（各 3 匹／時点）。本試験の反復投与期では、ミガーラスタット塩酸塩 122 mg/kg/日（遊離塩基換算で 100 mg/kg/日）を 7 日間自由飲水投与した。第 7 日の投与 0、4、8、12、16、20 及び 24 時間後に血漿及び組織試料（心臓、腎臓、脳、皮膚）を採取した（各 5 匹／時点）。ただし、試料採取期間中もミガーラスタット塩酸塩の自由飲水は継続した。組織及び血漿中ミガーラスタット濃度は、LC-MS/MS 法により測定した。単回経口投与後の血漿中及び組織中ミガーラスタット濃度推移を図 2.6.4 - 10 に示した。自由飲水投与第 7 日の組織分布を図 2.6.4 - 11 に示した。

単回強制経口投与後、末梢組織では投与 0.5 時間以内にミガーラスタットは最高濃度に到達し、皮膚、心臓及び腎臓での最高濃度はそれぞれ 75 ± 3.4 µmol/L、40 ± 3.4 µmol/L 及び 918 ± 83 µmol/L であった。その後、ミガーラスタットは末梢組織から比較的速やかに消失し、投与 24 時間後の皮膚、心臓及び腎臓での濃度はそれぞれ 0.13 ± 0.04 µmol/L、0.32 ± 0.1 µmol/L 及び

0.36 ± 0.03 µmol/L であった。$t_{1/2}$ は、皮膚、心臓及び腎臓でそれぞれ 3.8、3.6 及び 2.3 時間であった。

ミガーラスタットの脳への移行及び脳からの消失は緩徐で、最高濃度は他の組織よりも低く、投与 8 時間後までの濃度は 1.4 ± 0.3 µmol/L～4.7 ± 0.8 µmol/L の範囲であった。投与 24 時間後では、脳中濃度は 0.6 ± 0.1 µmol/L まで減少し、$t_{1/2}$ は 8 時間を超えることが示唆された。脳中曝露量は血漿中曝露量の約 27%であった。これらのデータより、ミガーラスタットは経口投与された後、中枢神経系を含む広範な組織分布を示すことが示された。

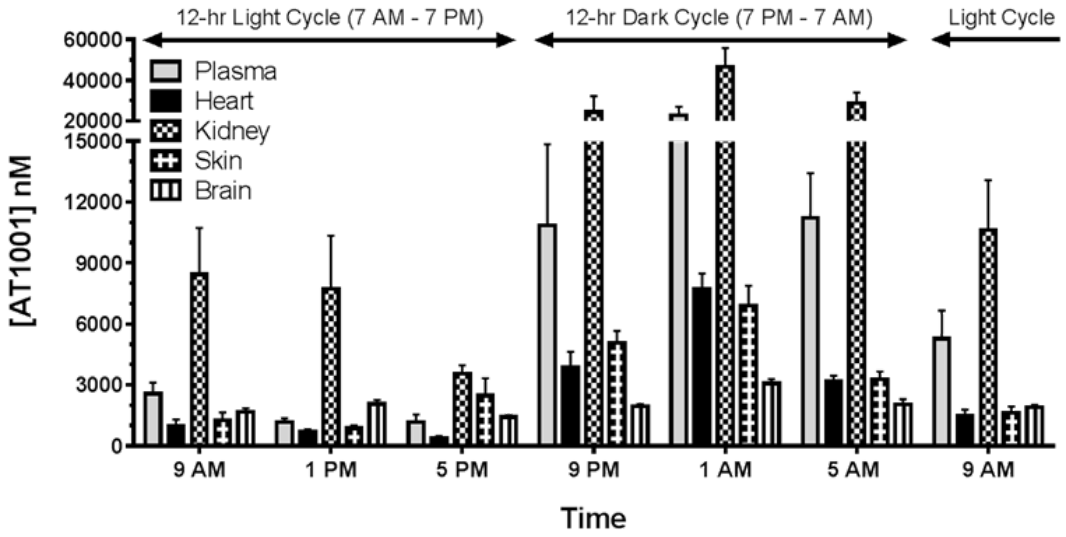
図 2.6.4 - 10　野生型 C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血漿中及び組織中ミガーラスタット濃度推移



Each point in graph represents the mean ± standard error of the mean from 3 mice.
µM = µmol/L
Source: RR1001-08, Figure 2

7 日間自由飲水投与後、24 時間のモニタリング期間の明暗サイクルを通じてミガーラスタット濃度を測定した結果、マウスが活動的となる暗期で濃度が高くなることが示された。最高濃度は、血漿、皮膚、心臓、腎臓及び脳でそれぞれ 23 ± 4.3 µmol/L、7 ± 1.0 µmol/L、7.7 ± 1.0 µmol/L、47 ± 9 µmol/L 及び 3.1 ± 0.2 µmol/L であった。これらのデータにより、ミガーラスタット塩酸塩の単回強制経口投与時と同様の所見が確認された。すなわち、ミガーラスタットは経口投与された後、広範な組織分布を示し、血液－脳関門を通過し、非臨床薬理試験で得られた α-ガラクトシダーゼ A に対する K_i 値（pH 7.0 で約 16 nmol/L）を超える組織濃度が得られ（表 2.6.2 - 1）、*in vivo* でターゲット酵素と相互作用する可能性が確認された。

図 2.6.4 - 11　C57BL/6 マウスでのミガーラスタット塩酸塩 7 日間自由飲水投与後の薬物動態及び組織分布



Each point in graph represents the mean ± standard error of the mean from 5 mice.
nM = nmol/L
Source: RR1001-08, Figure 3 modified

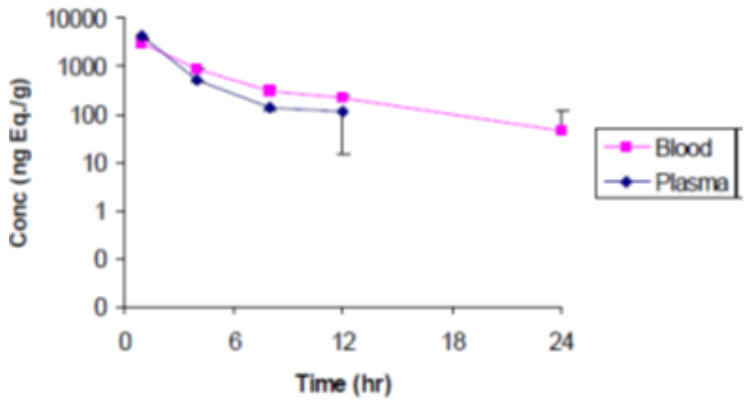
4.2.2　　ラットでの組織内分布

（試験番号 XBL08605、添付資料番号 4.2.2.3.2、評価資料）

雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩を単回経口投与後、各組織における放射能の分布を評価した（2.6.5.7.B 項）。^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、50 mg/kg（遊離塩基換算で 41 mg/kg、約 100 µCi/kg）の用量で単回強制経口投与した。投与 1、4、8、12、24 及び 72 時間後に血液、血漿及び組織試料を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて総放射能濃度を測定した（各 3 匹／時点）。血液及び血漿中放射能濃度推移を図 2.6.4 - 12 に示した。また、組織中放射能濃度推移を図 2.6.4 - 13 に示した。

血液及び血漿中では、それぞれ投与 24 及び 12 時間後まで放射能は検出され、放射能の消失は血漿中に比べて血液中では遅かった。

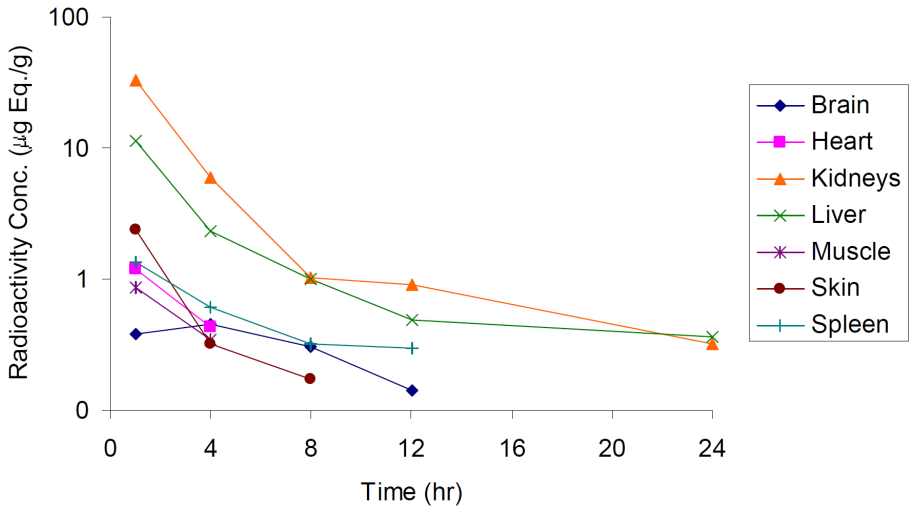
図 2.6.4 - 12　雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血液中及び血漿中総放射能濃度推移



Source: XBL08605, Figure 2

放射能濃度は腎臓で最も高く（投与 1 時間後で 33.1 µg Eq./g）、次いで肝臓で高かった（投与 1 時間後で 11.2 µg Eq./g）。その他の組織では、投与 1 時間後の濃度は著しく低かった（脳中濃度が最も低く 0.384 µg Eq./g、皮膚中濃度が最も高く 2.38 µg Eq./g）。投与 1 時間後の脳中濃度は血液中濃度の約 13%であった。投与 4 時間後でわずかに増加した脳を除いて、組織中放射能濃度は経時的に速やかに減少し、投与 24 時間後では、腎臓及び肝臓中の放射能濃度は極めて低く、その他全ての組織中では LLOQ 未満であった。

図 2.6.4 - 13　雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の組織中総放射能濃度推移



Source: XBL08605, Figure 3

4.2.3　　ラットでの胎盤通過性

（試験番号 AA94762、添付資料番号 4.2.3.5.3.1、評価資料）

ミガーラスタットの胎盤通過性について、雌 Sprague-Dawley ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験で評価した（2.6.5.8 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 820 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、25、100 及び 500 mg/kg（遊離塩基換算で 20.5、82 及び 410 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］強制経口投与した。母動物の投与期間は、妊娠 6 日～分娩後 20 日とした。妊娠 6 及び 20 日の投与 1 及び 4 時間後にサテライト群の母動物から、妊娠 20 日の投与 1 及び 4 時間後に胎児から血液試料を採取し、血漿中ミガーラスタット濃度を測定した（各 3 匹／群／時点）。血漿中濃度は、全ての投与群で胎児と比較して母動物で高かった（特に投与 1 時間後）。投与 1 時間後では、胎児の血漿中濃度は母動物の血漿中濃度の 6%～11%であり、胎盤通過性が確認された。

5　代謝（動物種間の比較）

5.1　*In vitro*

5.1.1　　ヒト、サル及びラット肝細胞中の代謝安定性

（試験番号 0332-145-01、添付資料番号 4.2.2.4.1、評価資料）

ミガーラスタットの肝細胞中代謝安定性を評価した（2.6.5.9 項）。ヒト、カニクイザル又は Sprague-Dawley ラットのプールした凍結保存肝細胞に、^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩（終濃度 1 及び 100 µmol/L）又は陽性対照であるナロキソン（終濃度 5 µmol/L）を添加し、0、1、2 及び 4 時間インキュベーションした。ラジオ HPLC を用いて、未変化体の消失及び代謝物の生成を分析した。

ヒト、カニクイザル及び Sprague-Dawley ラット肝細胞においてミガーラスタットの代謝を示す所見は認められなかった。一方、4 時間のインキュベーション後、陽性対照であるナロキソンは検出されず、肝細胞は代謝活性を有していたことが示された。また、肝細胞を含まない陰性対照試料では、ミガーラスタットの代謝は認められなかった。したがって、ミガーラスタットは代謝的に安定であると考えられた。

5.2　*In vivo*

5.2.1　　ラットでの代謝

（試験番号 XBL08605、添付資料番号 4.2.2.3.2、評価資料）

Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の血漿、尿及び糞中放射能の代謝プロファイルを評価した（2.6.5.10 項）。^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、50 mg/kg（遊離塩基換算で 41 mg/kg、約 100 µCi/kg）の用量で単回強制経口投与した。グループ 1 では尿及び糞をそれぞれ投与 24 及び 48 時間後まで採取した（雌雄各 4 匹）。また、グループ 2 では血漿試料を投与 1、4、8 及び 12 時間後に採取した（雄 3 匹／時点）。ラジオ HPLC とマイクロプレートカウンターを用いて代謝プロファイルを分析した。ただし、ラットにおけるミガーラスタットの代謝はほとんど認められなかったため、代謝物の構造解析及び同定は行わなかった。

ラット血漿中の主要な放射能成分は未変化体であることが確認された。投与後 0～12 時間の血漿中未変化体は血漿中総放射能の約 82.6%を占めており、放射能の 0 時間から 12 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}12}$）は 9.42 µg Eq.•hr/g であった。また、血漿中に 5 つの低濃度の放射能ピークが認められ、$AUC_{0\text{-}12}$ は 0.17～0.34 µg Eq.•hr/g であり、各ピークは血漿中総放射能の約 1.49%～2.98%であった。さらに微量の放射能ピークも検出されたが、投与後 0～12 時間の血漿中において各ピークは血漿中総放射能の 1%未満であった。

雌雄ラットの尿中では、投与放射能のそれぞれ 22.8%及び 21.9%が未変化体であった。未変化体以外の放射能ピークは小さく、投与後 0～24 時間の尿中では、いずれも投与放射能の 1.81%未満であった。

雌雄ラットの糞中の主要な放射能成分は未変化体であり、投与後 0～48 時間の糞中では、未変化体が投与放射能のそれぞれ 46.7%及び 51.8%を占めた。雄ラットの糞中では 4 つの小さな放射能ピークが検出され、投与後 0～48 時間の糞中では、各ピーク（ピーク 3、ピーク 4、ピーク 5 及びピーク 7）は投与放射能のそれぞれ 0.11%、2.36%、4.25%及び 1.04%であった。一方、雌ラットの糞中では 3 つの小さな放射能ピークが検出され、投与後 0～48 時間の糞中では、各ピーク（ピーク 3、ピーク 5 及びピーク 7）は投与放射能のそれぞれ 0.25%、4.03%及び 1.39%であった。

6　排泄

6.1　*In vivo*

6.1.1　　ラットでの排泄

（試験番号 XBL08605、添付資料番号 4.2.2.3.2、評価資料）

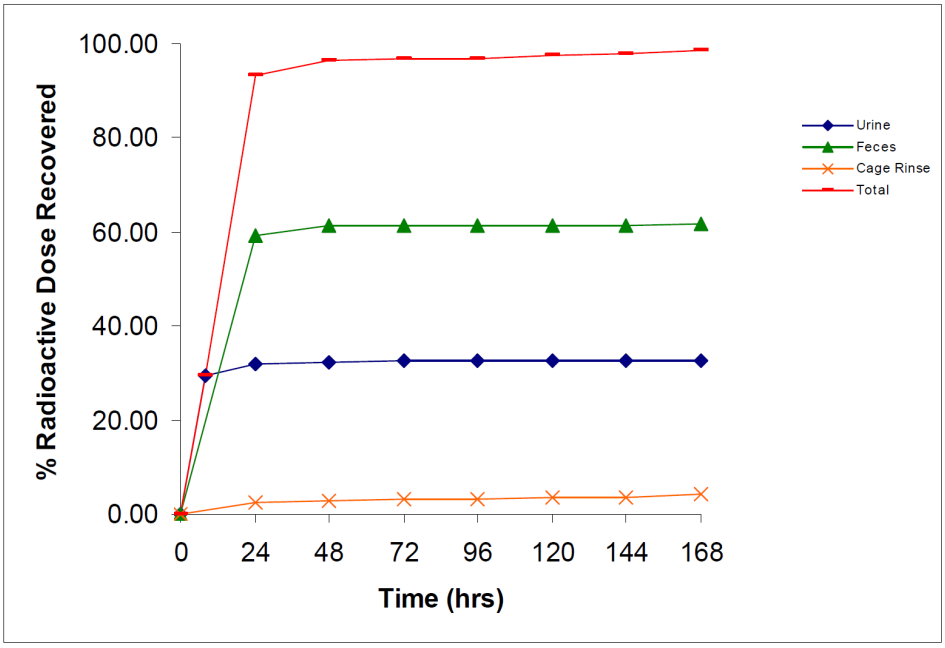
Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の尿及び糞中排泄を評価した（2.6.5.13 項）。

^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、50 mg/kg（遊離塩基換算で 41 mg/kg、約 100 µCi/kg）の用量で単回強制経口投与した（雌雄各 4 匹）。投与 168 時間後まで尿及び糞を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能濃度を測定した。

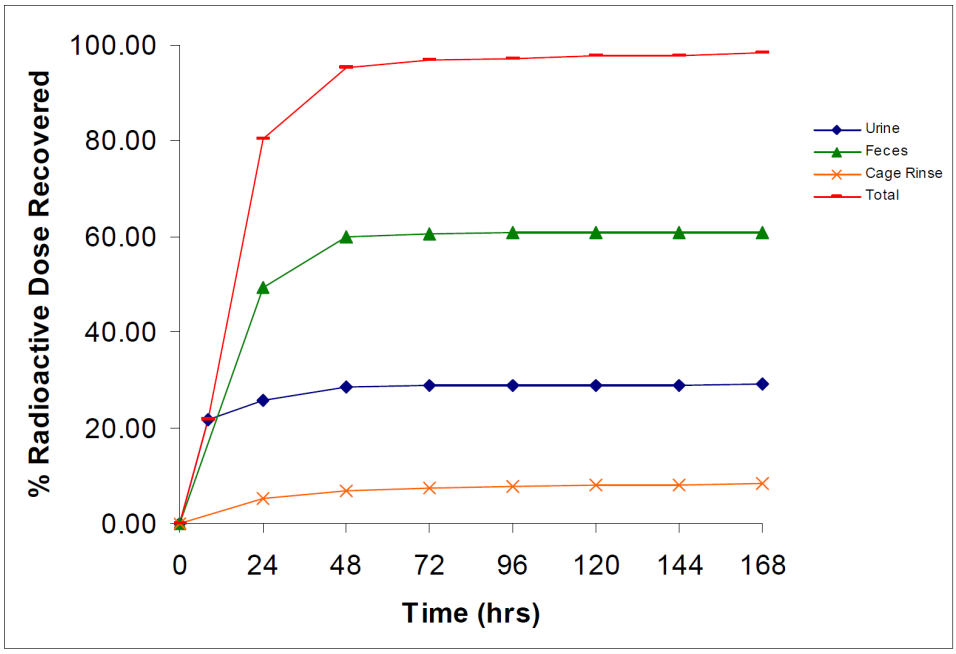
放射能の大部分（投与放射能の 61%～62%）は糞中に回収され、尿及びケージ洗浄水では投与放射能の 37%～38%であった（図 2.6.4 - 14）。糞及び尿ともに未変化体が放射能の大部分を占め、それぞれ投与放射能の 47%～52%及び 22%～23%であった。排泄は速やかであり、95%超の放射能が 48 時間以内に回収された。また、性差は認められなかった。

図 2.6.4 - 14　雌雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与後の総放射能の累積排泄率

Male



Female



Source: XBL08605, Figure 1

6.1.2　　ラットでの排泄及び呼気補足液中の回収率評価

（試験番号 XBL07625、添付資料番号 4.2.2.5.1、評価資料）

雌雄 Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与 24 時間後の尿、糞及び呼気中での回収率を評価した（2.6.5.13 項）。投与前から投与 4 時間後まで、動物を一晩絶

食させた。^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、1500 mg/kg（遊離塩基換算で1230 mg/kg、100 μCi/kg）の目標用量で単回強制経口投与した（雌雄各 1 匹）。投与後 0～24 時間に尿、糞及び呼気捕捉液を回収し、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を測定した。

投与 24 時間後までの投与放射能の総回収率は、雄で 74.79%、雌で 85.00%であった（表 2.6.4 - 3）。回収率は糞中で最も高く、次いで尿中で高かったが、CO_2 捕捉液中にはほとんど回収されなかった。

表 2.6.4 - 3　Sprague-Dawley ラットでの ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩単回経口投与 24 時間後までの投与放射能に対する回収率

	% Administered Dose	
Matrix	Male (N=1)	Female (N=1)
Faeces	50.88	67.39
Urine	23.81	17.47
CO_2 – Trap 1	0.10	0.12
CO_2 – Trap 2	0.00	0.02
Total	74.79	85.00

Source: XBL07625, Attachments

6.1.3　　ラットでの乳汁中排泄

（試験番号 AA94762、添付資料番号 4.2.3.5.3.1、評価資料）

ミガーラスタットの乳汁中排泄について、雌 Sprague-Dawley ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験で評価した（2.6.5.8 項）。ミガーラスタット塩酸塩は水に溶解し、0、50、200 及び 1000 mg/kg/日（遊離塩基換算でそれぞれ 41、164 及び 820 mg/kg/日）の用量で 1 日 2 回［それぞれ 0、25、100 及び 500 mg/kg（遊離塩基換算で 20.5、82 及び 410 mg/kg）の 1 回用量を約 6 時間の間隔で投与］強制経口投与した。母動物の投与期間は、妊娠 6 日～分娩後 20 日とした。授乳 15 日の投与 1 及び 4 時間後にサテライト群の母動物から乳汁試料を採取し、ミガーラスタット濃度を測定した（各 3 匹／群／時点）。投与 1 時間後では全ての投与群において乳汁中濃度は血漿中濃度と同程度であったが、投与 4 時間後では 2.5～8.1 倍高かった。

7　薬物動態学的薬物相互作用

7.1　薬物代謝酵素の誘導／阻害

7.1.1　　ヒト肝細胞での CYP1A2 及び CYP3A4 に対する誘導

（試験番号 XBL07624、添付資料番号 4.2.2.6.1、評価資料）

ヒト凍結保存肝細胞を用いて、CYP1A2 及び CYP3A4 に対するミガーラスタットの誘導作用を評価した（2.6.5.15.A 項）。ミガーラスタット塩酸塩（10、100 及び 1000 µmol/L）を 3 例のドナーから採取した接着型ヒト凍結保存肝細胞に添加し、5 日間インキュベーションした。オメプラゾール（50 µmol/L）及びリファンピシン（25 µmol/L）を、それぞれ CYP1A2 及び CYP3A4 の陽性対照として用いた。インキュベーション 5 日目に、CYP1A2 及び CYP3A4 の酵素活性をそれぞれの特異的基質であるフェナセチンの O-脱アルキル化及びテストステロンの 6β-水酸化反応により評価した。代謝物濃度は LC-MS/MS により測定した。

無処理肝細胞と比較して、ミガーラスタット塩酸塩は 1000 µmol/L まで CYP1A2 及び CYP3A4 活性を誘導しなかった。一方、陽性対照は同条件下でこれらの酵素活性を無処理肝細胞と比較して顕著に誘導した。

7.1.2　　ヒト肝細胞での CYP2B6 に対する誘導

（試験番号 XBL15798、添付資料番号 4.2.2.6.5、評価資料）

ヒト凍結保存肝細胞を用いて、CYP2B6 に対するミガーラスタットの誘導作用を評価した（2.6.5.15.B 項）。ミガーラスタット塩酸塩（5、50 及び 500 µmol/L）を 3 例のドナーから採取した接着型ヒト凍結保存肝細胞に添加し、3 日間インキュベーションした。フェノバルビタール（750 µmol/L）及び flumazenil（25 µmol/L）を、それぞれ CYP2B6 の陽性対照及び陰性対照として用いた。CYP2B6 の酵素活性は、特異的基質であるブプロピオンの水酸化反応により評価した。代謝物濃度は LC-MS/MS により測定した。また、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応により CYP2B6 のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現量を測定し、CYP2B6 誘導能を評価した。

ミガーラスタット塩酸塩は 500 µmol/L まで CYP2B6 活性を誘導せず、mRNA 発現量及び代謝活性はそれぞれ未処置群の 0.93～1.51 倍及び 0.75～1.08 倍であった。一方、陽性対照であるフェノバルビタールは、同条件下で未処置群と比較して有意に誘導した。陰性対照である flumazenil は誘導作用を示さなかった。

7.1.3　　ヒト肝ミクロソームでの CYP に対する阻害

（試験番号 XT115084、添付資料番号 4.2.2.6.2、評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いて、主な CYP（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4/5）に対するミガーラスタットの阻害作用を評価した（2.6.5.15.C 項）。ミガーラスタット塩酸塩（0.5～500 µmol/L）の CYP 活性阻害が直接阻害、時間依存的阻害又は代謝依存的阻害であるかを評価するため、16 例のドナーから採取後にプールしたヒト肝ミクロソームを、ミガーラスタット塩酸塩の存在下及び非存在下でマーカー

物質とともにインキュベーションした。時間依存的阻害と代謝依存的阻害を区別するため、マーカー物質とのインキュベーション前に、ミガーラスタット塩酸塩をそれぞれ還元型 β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸生成系の存在下及び非存在下で、ヒト肝ミクロソームとともに 30 分間プレインキュベーションした。全ての実験において、陽性対照として CYP の既知の直接阻害剤及び代謝依存的阻害剤を使用した。

検討したいずれの CYP に対しても、ミガーラスタット塩酸塩の直接阻害、時間依存的阻害又は代謝依存的阻害を示す所見は認められず、50%阻害濃度（IC_{50}）は全ての条件下で 500 µmol/L 超であった。

7.2　トランスポーター

7.2.1　　排出トランスポーター及び取り込みトランスポーターに対する阻害

（試験番号 Amicus-01-[redacted]、添付資料番号 4.2.2.6.3、評価資料）

ミガーラスタットの排出トランスポーターである BCRP、BSEP 及び P-gp 並びに取り込みトランスポーターである MATE1、MATE2-K、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1 及び OCT2 に対する阻害作用について評価した（2.6.5.15.D 項）。ミガーラスタット塩酸塩を 0.69～500 µmol/L の濃度範囲で、トランスポーターごとに適宜設定した時間でインキュベーションした。排出トランスポーターを過剰発現している細胞から作成した反転膜ベシクルを用いて、ベシクル輸送アッセイを実施した。低透過性のプローブ基質を、排出トランスポーターによりベシクル内に輸送させた。インキュベーション終了時にインキュベーション液をろ過してベシクルを分離し、ベシクル内に輸送されたプローブ基質を液体シンチレーションカウンターで定量した。また、それぞれの取り込みトランスポーターを安定発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、イヌ腎臓尿細管上皮（MDCKII）細胞又はヒト胚腎臓（HEK）293 細胞を用いて取り込み試験を実施した。取り込まれた基質を液体シンチレーションカウンターで定量した。

ミガーラスタットは、いずれのトランスポーターも阻害しなかった。

7.2.2　　排出トランスポーター及び取り込みトランスポーターの基質

（試験番号 Amicus-02-[redacted]、添付資料番号 4.2.2.6.4、評価資料）
（試験番号 Amicus-04-[redacted]、添付資料番号 4.2.2.6.6、評価資料）

Amicus-02-28Apr2015 試験では、ミガーラスタットが排出トランスポーターである BCRP 及び P-gp 並びに取り込みトランスポーターである MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質であるかを評価した（2.6.5.15.E 項）。

BCRP 又は P-gp を過剰発現している細胞及び非発現細胞から作成した反転膜ベシクルを用いてミガーラスタットの取り込みを評価した。ミガーラスタットが能動的に取り込まれるかを評価するために、アデノシン三リン酸又はアデノシン一リン酸添加下でミガーラスタット塩酸塩 2 濃度（50 及び 100 µmol/L）を 2 及び 20 分間インキュベーションした。ベシクル内に取り込まれたミガーラスタット濃度を LC-MS/MS 法により定量した。BCRP 及び P-gp ともに、ミガーラスタット塩酸塩 50 µmol/L で 2 分間インキュベーションした時のみ、アデノシン三リン酸依存の蓄積値

は、基質であると判断される閾値である 2 倍を超えた。再度実験したところ、いずれのトランスポーターでも初回実験と異なり閾値を下回ったため、ミガーラスタットは BCRP 又は P-gp の基質ではない可能性が示唆された。

また、取り込みトランスポーターである MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3 及び OCT2 を発現させた CHO 細胞又は MDCKII 細胞、並びに非発現細胞を用いて、ミガーラスタットがそれらの基質であるかを評価した。ミガーラスタット塩酸塩 2 濃度（10 及び 100 µmol/L）を 2 及び 20 分間インキュベーションした。OAT3 については、既知の阻害剤であるプロベネシド存在下で取り込みを評価した。取り込まれたミガーラスタット濃度を LC-MS/MS 法により定量した。なお、評価に用いた 10 及び 100 µmol/L は、ヒトでの治療用量であるミガーラスタット塩酸塩 150 mg を一日おきに投与したときの血漿中濃度の C_{max} が約 10 µmol/L であったことに基づいて決定した。

MATE1、MATE2-K、OAT1 又は OCT2 発現細胞及び非発現細胞を用いて評価した結果、いずれの試験条件下でもミガーラスタットの能動的な蓄積は認められなかった（蓄積値は 2 倍未満）。したがって、ミガーラスタットは BCRP 及び P-gp、MATE1、MATE2-K、OAT1 及び OCT2 の基質ではないと考えられた。一方、OAT3 については 3 例のデータの中で外れ値が認められたため、再度実験した。2 回の実験結果をまとめると、100 µmol/L でインキュベーションしたときはいずれも蓄積値が 2 倍を超えたが、10 µmol/L でインキュベーションしたときはいずれも 2 倍未満であった。さらに、フォローアップの実験として 100 µmol/L で 1%のジメチルスルホキシド添加条件下でインキュベーションしたときの蓄積値は 1.00 倍であった。したがって、ミガーラスタットは OAT3 の基質ではないと考えられるが、本試験では結論を下すことができなかったため、OAT3 についてのみ再試験を実施した。

Amicus-04-03Nov2015 試験では、統計学的な検出力を高めるため、ミガーラスタット塩酸塩を 5 濃度、各 6 例で試験した。OAT3 を発現させた MDCKII 細胞及び非発現細胞を用いて、ミガーラスタットが OAT3 の基質であるかを評価した（2.6.5.15.F 項）。ミガーラスタット塩酸塩 5 濃度（3、10、30、100 及び 300 µmol/L）を 2 及び 20 分間インキュベーションした。いずれの条件下でも能動的な取り込みは認められなかった。したがって、ミガーラスタットは OAT3 の基質ではないと考えられた。

7.2.3　SGLT1 の基質

（試験番号 2011N125700_00、添付資料番号 4.2.2.6.7、評価資料）

アフリカツメガエルの卵母細胞発現系を使用した電気生理学的実験で、ミガーラスタットが SGLT1 の基質である可能性を検討した（2.6.5.15.G 項）。濃度－反応曲線を作成するため、メチル-α-D-グルコピラノシド又はミガーラスタット塩酸塩を複数濃度で卵母細胞に添加し、室温で表面潅流した。定常状態での膜電位変化を開路状態で測定し、得られたデータを同じ卵母細胞中のメチル-α-D-グルコピラノシドにより誘発された最大脱分極に標準化した。卵母細胞を各濃度のメチル-α-D-グルコピラノシド又はミガーラスタット塩酸塩で表面潅流した後に、200 µmol/L のフロリジン（既知の SGLT1 阻害剤）を添加することにより、フロリジンによるヒト SGLT1 阻害が認められた。

メチル-α-D-グルコピラノシド及びミガーラスタット塩酸塩は、SGLT1 発現卵母細胞において、濃度依存的に膜脱分極を誘導し、50%有効濃度はそれぞれ 2.08 ± 0.09 mmol/L（n=2）及び 222.85 ± 48.5 mmol/L（n=2）であった。フロリジンは、メチル-α-D-グルコピラノシド及びミガーラスタット塩酸塩により誘発された脱分極をそれぞれ 100% ± 0.00%及び 73.71% ± 9.81%阻害した。これらの結果から、ミガーラスタットは、ヒト SGLT1 に対して低親和性であるものの基質であることが示唆された。

上記の結果は、ミガーラスタットの PK に及ぼすグルコース飲料の影響を検討した臨床結果と一致した。この臨床試験では、グルコース飲料との同時投与によりミガーラスタットの C_{max} 及び 0 時間から無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}inf}$）がわずかに低下したが、臨床的意義はないと考えられた（AT1001-016 試験；2.7.1.2.3.2 項）。

7.2.4　SGLT1 に対する阻害

（試験番号 2011N125739_00、添付資料番号 4.2.2.6.8、評価資料）

バキュロウイルス発現系を用いて、COS-7 細胞におけるミガーラスタットによる SGLT1 阻害作用を評価した（2.6.5.15.H 項）。COS-7 細胞を、ミガーラスタット塩酸塩（0.15～150 mmol/L）及び放射性標識したメチル-α-D（U-^{14}C）-グルコピラノシドと 37°C で 45 分間インキュベーションした。陽性対照である GSK2340791A（SGLT1 阻害剤）を用いて、濃度－反応曲線を作成した。

ミガーラスタット塩酸塩は COS-7 細胞でのグルコース取り込みを濃度依存的に阻害し、IC_{50} は 64.7 ± 2.55 mmol/L と推定された。これらのデータから、ミガーラスタットは SGLT1 によって触媒されるグルコース取り込みを阻害するが、親和性は低いことが示唆された。

7.2.5　SGLT2 の基質

（試験番号 OPT-2015-091、添付資料番号 4.2.2.6.10、評価資料）

SGLT2 を発現させた MDCKII 単層膜細胞、及び非発現細胞を用いてミガーラスタットが SGLT2 の基質であるかを評価した（2.6.5.15.I 項）。各細胞を 37°C で 15 分間プレインキュベーションした後、ミガーラスタット塩酸塩（10、30、100 及び 300 µmol/L）を添加し、SGLT2 の典型的阻害剤であるフロリジン 1 µmol/L 存在下又は非存在下で 5 分間インキュベーションした。ミガーラスタットの取り込みは LC-MS/MS 法により定量した。

非発現細胞と比較して、SGLT2 発現細胞ではミガーラスタットの輸送は少なかった。また、SGLT2 の典型的阻害剤存在下でも、非発現細胞及び SGLT2 発現細胞ともにミガーラスタットの輸送は影響を受けなかった。以上より、ミガーラスタットは SGLT2 の基質ではないことが示唆された。

7.2.6　SGLT2 に対する阻害

（試験番号 OPT-2015-090、添付資料番号 4.2.2.6.9、評価資料）

SGLT2 を発現させた MDCKII 単層膜細胞及び非発現細胞を用いてミガーラスタットが SGLT2 の阻害剤であるかを評価した（2.6.5.15.J 項）。各細胞を 37°C で 15 分間プレインキュベーション

した後、ミガーラスタット塩酸塩（3～1000 μmol/L）及びプローブ基質を添加して反応を開始し、5 分間インキュベーションした。プローブ基質（^{14}C-メチル-α-D-グルコピラノシド）の取り込みはラジオ検出器で定量した。

1 回目の実験では、非発現細胞のミガーラスタット塩酸塩 30 μmol/L 添加時に 3 例中 2 例が外れ値を示したため、再度実験した。その結果、検討したいずれの濃度においても、ミガーラスタット塩酸塩は SGLT2 の基質であるメチル-α-D-グルコピラノシドの輸送を阻害せず、IC_{50} は算出できなかった。一方、SGLT2 の典型的阻害剤であるフロリジン（1 μmol/L）で十分な阻害が認められた。以上より、ミガーラスタットは SGLT2 によって触媒されるグルコースの取り込みを阻害しないことが示唆された。

8　その他の薬物動態試験

該当なし。

9　考察及び結論

ミガーラスタット塩酸塩の PK/TK は、毒性試験で用いられた動物種において十分に評価されている。マウス及びヒトでは、経口投与後に速やかに吸収され、バイオアベイラビリティは約 50%以上と高かった。ラットに ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩投与後の放射能は全身に広く分布し、24 時間以内に大半が消失した。ミガーラスタットは、ラットにおいて胎盤通過性及び乳汁移行性を有すること並びに血液－脳関門を通過することが示唆された。ミガーラスタットの血漿タンパク結合率は、ヒトを含む検討したいずれの動物種においても非常に低かった。ラットに ^{14}C-ミガーラスタット塩酸塩投与後の放射能は主に糞及び尿中に未変化体として排泄された。*In vitro* 及び *in vivo* 代謝データから、ミガーラスタットの全身からの消失に対する代謝の寄与はほとんどないことが示された。ラットの血漿及び排泄物中には種々の代謝物が検出されたが、投与量の約 3%～4%を超える代謝物はなく、大半が未変化体であった。これは、放射性標識化合物を用いたヒトでの代謝・排泄試験で認められた代謝・排泄プロファイルと同様である（AT1001-014 試験；2.7.2.2.1.5 項）。*In vitro* 試験より、ミガーラスタットは検討したいずれの CYP に対しても阻害能を有さず（IC_{50}：>500 µmol/L）、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導能も有さなかった。また、ミガーラスタットはヒト肝細胞中で代謝的に安定であったことから、CYP によって代謝されないことが示唆された。ミガーラスタットは、排出トランスポーターである BCRP、P-gp 及び BSEP 並びに取り込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を阻害しなかった。また、ミガーラスタットは BCRP、P-gp、MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3 又は OCT2 の基質ではなかった。さらに、ミガーラスタットは、消化管のグルコース吸収を制御する SGLT である SGLT1 に対して低親和性ではあるものの基質／阻害剤であることが示された。一方、SGLT2 の基質／阻害剤ではなかった。これらの結果に基づくと、ミガーラスタットが他の低分子とこれらの CYP 及びトランスポーターを介した薬物間相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

10　参考文献

Collett A, Sims E, Walker D, He YL, Ayrton J, Rowland M, et al, Comparison of HT 29-18C_1 and Caco-2 cell lines as models for studying intestinal paracellular drug absorption. Pharm Res. 1996 Feb;13(2):216-221. (4.3.10)

ガラフォルド®カプセル 123mg

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

Amicus Therapeutics 株式会社

目次

2.6.5.1　薬物動態試験 一覧表 3
2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書 10
2.6.5.3　薬物動態：吸収（Caco-2 透過性） 15
2.6.5.4　薬物動態：吸収：単回投与 17
2.6.5.5　薬物動態：吸収：反復投与 19
2.6.5.6　薬物動態：血漿タンパク結合 47
2.6.5.7　薬物動態：組織分布 48
2.6.5.8　薬物動態：妊娠又は授乳動物における試験 54
2.6.5.9　薬物動態：代謝：*In vitro* 56
2.6.5.10　薬物動態：代謝：*In vivo* 57
2.6.5.11　薬物動態：推定代謝経路 60
2.6.5.12　薬物動態：薬物代謝酵素の誘導／阻害 61
2.6.5.13　薬物動態：排泄 62
2.6.5.14　薬物動態：胆汁中排泄 64
2.6.5.15　薬物動態：薬物相互作用 65
2.6.5.16　薬物動態：その他 82

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Analytical Methods and Validation						
Method Validation, Mouse Plasma (high analytical range)	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA94546-01	4.2.2.1.1
Method Validation, Mouse Plasma (low analytical range)	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA95776-01	4.2.2.1.2
Method Validation, Rat Plasma	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA03717-01	4.2.2.1.3
Method Validation, Rabbit Plasma	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA26519-01	4.2.2.1.4
Method Validation, Dog Plasma	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA05331-01	4.2.2.1.5
Method Validation, Monkey Plasma	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA19858-01	4.2.2.1.6
Method Validation, Rat Milk	Yes	NA	*In vitro*	[redacted] USA	AA95411-01	4.2.2.1.7
Absorption and Pharmacokinetics						
Preliminary Solubility, Caco-2 Permeability, and Tolerability Study	No	Caco-2 cells	*In vitro*	[redacted] USA	7AMICP1 (2010N110585_00)	4.2.2.2.1

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Determination of the Permeability of Migalastat Across Caco-2 Cell Monolayers Treated with EGTA	No	Caco-2 cells	*In vitro*	[redacted] USA	9AMICP2 (2010N110584_00)	4.2.2.2.2
Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Migalastat in Wild-Type Mice	No	C57BL/6 mice	IV, oral gavage, oral in drinking water	[redacted] USA	RR1001-08 (2012N136187_01)	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics of Migalastat Following Single IV and Oral Administration in Wild-Type Mice	No	C57BL/6 mice	IV, oral gavage	[redacted] USA	RR1001-35 (2012N148721_00)	4.2.2.2.4
28-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice	Yes	CByB6F1 mice	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR70575 (2011N130178_00)	4.2.3.2.1
26-Week Oral Carcinogenicity Study in Tg.rasH2 Mice (CByB6F1 Mice for Toxicokinetic Phase)	Yes	CByB6F1 mice	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR70576 (2012N141502_00)	4.2.3.4.1.1
5-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats	Yes [1]	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR5881 (2010N110607_00)	4.2.3.2.2
14-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR5850 (2010N110605_00)	4.2.3.2.3
Fertility Study by the Oral Route in Male Rats	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] France	AA31159 (2011N130184_00)	4.2.3.5.1.2

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
26-Week Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] France	AA17017 (2010N110611_01)	4.2.3.2.4
104-Week Oral Carcinogenicity Study in Sprague-Dawley Rats	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] India	G4970 (2012N142005_00)	4.2.3.4.1.2
Toxicokinetics in Pregnant Rabbits: Embryo-foetal Toxicity Study by the Oral Route	Yes	New Zealand White rabbits	Oral gavage	[redacted] France	AA26552 (2011N130187_00)	4.2.3.5.2.3
5-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs	Yes [1]	Beagle dogs	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR6003 (2010N110609_00)	4.2.3.2.5
14-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs	Yes	Beagle dogs	Oral gavage	[redacted] Canada	ITR2978	4.2.3.2.6
14-Day Oral Dose Range-finding and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys	Yes	Cynomolgus monkeys	Oral gavage	[redacted] France	AA17225 (2010N110612_00)	4.2.3.2.7
39-Week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys	Yes	Cynomolgus monkeys	Oral gavage	[redacted] France	AA17227 (2010N110614_00)	4.2.3.2.8
Distribution						
Plasma Protein Binding of Migalastat in Mouse, Rat, Monkey, and Human Plasma	No	CD-1 mouse, Sprague-Dawley rat, cynomolgus monkey, and human plasma	*In vitro*	[redacted] USA	0332-145-02 (2010N110599_00)	4.2.2.3.1

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Migalastat in Wild-Type Mice	No	C57BL/6 mice	IV, oral gavage, oral in drinking water	[redacted] USA	RR1001-08 (2012N136187_01)	4.2.2.2.3
Tissue Distribution, Metabolism, and Mass Balance Study in Rats with [^{14}C]-Migalastat HCl	No	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] USA	XBL08605 (08-64516/2010N110603_00)	4.2.2.3.2
Pre- and Post-natal Development Study by the Oral Route in Rat (Placental Transfer and Excretion into Milk)	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] France	AA94762 (2011N130190_00)	4.2.3.5.3.1
Metabolism						
Metabolic Stability of [^{14}C]-Migalastat in Cryopreserved Human, Monkey, and Rat Hepatocytes	No	Cryopreserved human, cynomolgus monkey, and Sprague-Dawley rat hepatocytes	*In vitro*	[redacted] USA	0332-145-01 (2010N110594_00)	4.2.2.4.1
Tissue Distribution, Metabolism, and Mass Balance Study in Rats with [^{14}C]-Migalastat HCl	No	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] USA	XBL08605 (08-64516/2010N110603_00)	4.2.2.3.2

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Excretion						
Tissue Distribution, Metabolism, and Mass Balance Study in Rats with [^{14}C]-Migalastat HCl	No	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] USA	XBL08605 (08-64516/2010N110603_00)	4.2.2.3.2
Recovery of Radioactivity in Urine, Faeces and as [^{14}C]CO_2 in Expired Air Following a Single Oral Dose of [^{14}C]-Migalastat HCl to Rats	No	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] USA	XBL07625 (2010N110590_00)	4.2.2.5.1
Pre- and Post-natal Development Study by the Oral Route in Rat (Excretion in Milk)	Yes	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	[redacted] France	AA94762 (2011N130190_00)	4.2.3.5.3.1
Pharmacokinetic Drug Interactions						
In Vitro Cytochrome P450 Enzyme Induction Study in Human Hepatocytes	No	Cryopreserved human hepatocytes	*In vitro*	[redacted] USA	XBL07624 (08-64515/2010N110595_00)	4.2.2.6.1
In Vitro Evaluation of Human Cytochrome P450 2B6 Induction Potential in Human Hepatocytes	No	Cryopreserved human hepatocytes	*In vitro*	[redacted] USA	XBL15798	4.2.2.6.5
In Vitro Evaluation of Migalastat as an Inhibitor of Cytochrome P450 Enzymes in Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	*In vitro*	[redacted] USA	XT115084 (2011N128565_00)	4.2.2.6.2

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
In Vitro Interaction Studies of Migalastat as an Inhibitor of Human Efflux and Uptake Transporters	No	Vesicular transport assays were performed using inside-out membrane vesicles prepared from insect and mammalian cells overexpressing human ABC transporters. Uptake experiments were performed using intact CHO, MDCKII, or HEK293 cells stably expressing the respective uptake transporters.	*In vitro*	[redacted]	Amicus-01-02Dec2014	4.2.2.6.3
In Vitro Interaction Studies of Migalastat as a Substrate of Membrane Transport Proteins	No	Vesicular transport assays were performed using inside-out membrane vesicles prepared from mammalian cells overexpressing human ABC transporters. Uptake experiments were performed using intact CHO or MDCKII cells stably expressing the respective uptake transporters.	*In vitro*	[redacted]	Amicus-02-28Apr2015	4.2.2.6.4
In Vitro Interaction Study of Migalastat as a Substrate of the Human OAT3 Uptake Transporter	No	Uptake experiments were performed using inside-out membrane vesicles prepared from using MDCKII cells stably expressing the OAT3 uptake transporter.	*In vitro*	[redacted]	Amicus-04-03Nov2015	4.2.2.6.6

2.6.5.1　薬物動態試験　一覧表（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
In Vitro Effects of Migalastat on Membrane Potential of Xenopus Oocytes Expressing Human Sodium Glucose Cotransporter 1	No	*In vitro Xenopus laevis* oocyte expression system used in an electrophysiological experiment to measure the effect on membrane potential	*In vitro*	[redacted] USA	2011N125700_00	4.2.2.6.7
In Vitro Inhibition of Human Sodium Glucose Cotransporter 1 (SGLT1) by Migalastat	No	A baculovirus expression system using COS-7 cells expressing human SGLT1, to evaluate the potential for migalastat HCl to inhibit human SGLT1 *in vitro*.	*In vitro*	[redacted] USA	2011N125739_00	4.2.2.6.8
In Vitro Interaction Studies of Migalastat as a Substrate of Human SGLT2- Mediated Transport	No	A polarised monolayer of MDCK-II cells expressing the sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) or treated with a control vector.	*In vitro*	[redacted] USA	OPT-2015-091	4.2.2.6.10
In Vitro Interaction Studies of Migalastat as an Inhibitor of Human SGLT2- Mediated Transport	No	A polarised monolayer of MDCK-II cells expressing the transporter of interest or treated with a control vector. The transport of probe substrate was determined by radiometric detection.	*In vitro*	[redacted] USA	OPT-2015-090	4.2.2.6.9

ABC = ATP-Binding Cassette; Caco-2 = human colonic adenocarcinoma cell line; CHO = Chinese hamster ovary; COS-7 = African Green Monkey SV40-transfected kidney fibroblast cell line; EGTA = ethylene glycol tetraacetic acid; HEK = Human embryonic kidney; IV = intravenous; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; NA = not applicable; OAT = Organic anion transporter

1　This study was conducted in accordance with the GLP regulations of the United States Food and Drug Administration (21 CFR Part 58 and subsequent amendments) with the exception of the Bioanalytical and Toxicokinetic analysis.

2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書

LC-MS/MS を用いたミガーラスタット分析法

Species/ Sample Matrix	**Calibration Range**	**Method Utilised**	**Precision Range (%CV)**	**Accuracy Range (%Bias)**	**Stability**	**Study Number (Location in CTD)**
Mouse plasma	10.0-2000 µg/mL	Protein precipitation	Intra-batch: 0.8 to 7.4% Inter-batch: 2.5 to 7.8%	Intra-batch: -6.6 to 7.0% Inter-batch: -2.0 to 4.0%	Short-Term Stability: 24 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light Cumulative Short-Term Stability: 52 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light (total of all thaw cycles) Post-Preparative Stability: 154 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C Processed Sample Integrity: 124 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C Freeze and Thaw Stability: 6 freeze (-80°C)-thaw (ambient temperature) cycles in polypropylene tubes under white light Long-Term Stability: 398 days in polypropylene tubes at -80°C Stability of Analyte During Sample Collection and Handling: Up to 120 minutes in mouse whole blood (EDTA) in polypropylene tubes at ambient temperature and in an ice water bath under white light Sample Aliquot Frozen Storage Stability: Samples aliquoted manually at a volume of 0.0250 mL, stored for 117 hours in a polypropylene 96-well plate at -80°C prior to extraction	AA94546-01 – Method AA94546-01 – Validation (4.2.2.1.1)

2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書（続き）

Species/ Sample Matrix	Calibration Range	Method Utilised	Precision Range (%CV)	Accuracy Range (%Bias)	Stability	Study Number (Location in CTD)
Mouse plasma	50.0-10000 ng/mL	Protein precipitation	Intra-batch: 0.6 to 5.9% Inter-batch: 4.7 to 5.2%	Intra-batch: -7.3 to 6.0% Inter-batch: -2.0 to 1.0%	Short-Term Stability: 24 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light Cumulative Short-Term Stability: 50 hours (LLOQ QC) and 52 hours (10.0 and 15000 µg/mL) in polypropylene tubes at ambient temperature under white light (total of all thaw cycles) Post-Preparative Stability: 227 hours in a polypropylene 96 well plate at 5°C Processed Sample Integrity: 210 hours in a polypropylene 96 well plate at 5°C Freeze and Thaw Stability: 6 freeze (-80°C)-thaw (ambient temperature) cycles in polypropylene tubes under white light Long-Term Stability: 153 days (LLOQ QC and high QC) and 398 days (10.0 and 15000 µg/mL) in polypropylene tubes at -80°C Stability of Analyte During Sample Collection and Handling: Up to 120 minutes in mouse whole blood (EDTA) in polypropylene tubes at ambient temperature and in an ice water bath under white light	AA95776-01 - Method AA95776-01 – Validation (4.2.2.1.2)

2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書（続き）

Species/ Sample Matrix	Calibration Range	Method Utilised	Precision Range (%CV)	Accuracy Range (%Bias)	Stability	Study Number (Location in CTD)
Rat plasma	29.5-2950 ng/mL	Solid-phase extraction	Intra-batch: 2.7 to 9.8% Inter-batch: 5.0 to 16.4%	Intra-batch: -0.9 to 11.6% Inter-batch: -3.7 to 8.2%	Long-Term Stability: At least 311 days in polypropylene tubes at –20°C 251 days in polypropylene tubes at -80°C Short-Term Stability: 25 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light Freeze and Thaw Stability: 8 cycles in polypropylene tubes at –20°C Stability of Analyte During Sample Collection and Handling: Up to 120 minutes in rat plasma (EDTA) in polypropylene tubes at -20°C under UV-shielded light Processed Sample Integrity:174 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C Post-Preparative Stability:177 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C	AA03717-01 - Method AA03717-01 - Validation (4.2.2.1.3)
Rabbit plasma	40.0-10000 ng/mL	Solid-phase extraction	Intra-batch: 0.9 to 11.7% Inter-batch: 3.4 to 7.6%	Intra-batch: -2.3 to 9.8% Inter-batch: 0.0 to 5.8%	Long-Term Stability: 12 days in polypropylene tubes at -20°C Short-Term Stability: 24 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light Freeze and Thaw Stability: 6 cycles in polypropylene tubes at -20°C Post-Preparative Stability: 156 hours in a polypropylene 96 well plate at 5°C Processed Sample Integrity: 145 hours in a polypropylene 96 well plate at 5°C	AA26519-01 - Method AA26519-01 - Validation (4.2.2.1.4)

2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書（続き）

Species/ Sample Matrix	Calibration Range	Method Utilised	Precision Range (%CV)	Accuracy Range (%Bias)	Stability	Study Number (Location in CTD)
Dog plasma	29.4-2940 ng/mL	Solid-phase extraction	Intra-batch: 1.9-5.2% Inter-batch: 5.1 to 15.8%	Intra-batch: -7.9 to 4.1% Inter-batch: -5.0 to -0.3%	Long-Term Stability: 62 days at -20°C Short-Term Stability: 26 hours at ambient temperature, white light Freeze and Thaw Stability: 6 cycles at -20°C Processed Sample Integrity: 127 hours at 5°C	AA05331-01 - Method AA05331-01 - Validation (4.2.2.1.5)
Monkey plasma	50.0-5000 ng/mL	Solid-phase extraction	Intra-batch: 1.4 to 6.2% Inter-batch: 3.1 to 11.3%	Intra-batch: -2.7 to 3.6% Inter-batch: -0.8 to 3.3%	Long-Term Stability: 466 days at -20°C in polypropylene tubes Short-Term Stability: 171 hours at ambient temperature, white light in polypropylene tubes Freeze and Thaw Stability: 6 cycles at -20°C in polypropylene tubes Processed Sample Integrity: 129 hours at 5°C in a polypropylene 96-well plate Post-Preparative Stability: 136 hours at 5°C	AA19858-01 - Method AA19858-01 – Validation (4.2.2.1.6)

2.6.5.2　分析法及びバリデーション報告書（続き）

Species/ Sample Matrix	Calibration Range	Method Utilised	Precision Range (%CV)	Accuracy Range (%Bias)	Stability	Study Number (Location in CTD)
Rat milk	29.4-2940 ng/mL	Solid-phase extraction	Intra-batch: 1.1 to 6.8% Inter-batch: 3.6 to 9.7%	Intra-batch: -7.5 to 11.9% Inter-batch: -0.9 to 4.1%	Short-Term Stability: 24 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light Cumulative Short-Term Stability: 50 hours in polypropylene tubes at ambient temperature under white light (total of all thaw cycles) Post-Preparative Stability: 78 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C Processed Sample Integrity: 148 hours in a polypropylene 96-well plate at 5°C Freeze and Thaw Stability: 6 freeze (-20°C)-thaw (ambient temperature) cycles in polypropylene tubes under white light, 4 freeze (-20°C)-thaw (ice water bath) cycles in polypropylene tubes under white light Long-Term Stability: 63 days in polypropylene tubes at -20°C, 59 days in polypropylene tubes at -80°C	AA95411-01 - Method AA95411-01 – Validation (4.2.2.1.7)

CV = coefficient of variation; EDTA = ethylene diamine tetraacetic acid; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = lower limit of quantitation; QC = quality control

2.6.5.3　　A 薬物動態：吸収（Caco-2 透過性）

溶解性、Caco-2 単層膜細胞透過性及び耐容性

Test Article: Migalastat HCl

Study No. 7AMICP1

Location in CTD: 4.2.2.2.1

Type of Study: Preliminary Solubility, Caco-2 Permeability, and Tolerability Study

Method: Aqueous solubility of migalastat HCl was determined at pH 2.0 and pH 7.4. Caco-2 permeability of migalastat HCl (100 µmol/L was evaluated in HBSS containing 10 mmol/L HEPES and 15 mmol/L glucose at pH 7.4). Cells were incubated on the apical side (A-to-B) or basolateral side (B-to-A) at 37°C in 5% CO_2 and 90% relative humidity. Each determination was performed in triplicate. All samples were assayed by LC-MS/MS using electrospray ionisation.

Tabulated Results:

Test Compound (Concentration)	**Migalastat Caco-2 Permeability (10^{-6} cm/s) and Recovery Results (Co-dosed with Atenolol, Minoxidil, and Pindolol)**			
	P_{app} (A-to-B) Mean ± SD (10^{-6} cm/s)	**Recovery (%) Mean ± SD**	**P_{app} (B-to-A) Mean ± SD (10^{-6} cm/s)**	**Ratio (B-to-A) / (A-to-B)**
Migalastat HCl (100 µmol/L)	0.613 ± 0.398	82.1 ± 3.43	0.400 ± 0.171	0.65
Pindolol (10 µmol/L)	22.3 ± 3.21	95.4 ± 14.6	ND	ND
Minoxidil (10 µmol/L)	5.33 ± 1.45	100 ± 34.4	ND	ND
Atenolol (100 µmol/L)	0.430 ± 0.0584	94.5 ± 3.08	ND	ND

Additional information: The aqueous solubility of migalastat was >1 mg/mL at both pH 2.0 and pH 7.4. Caco-2 monolayers tolerated migalastat HCl up to 10 mmol/L for 60 minutes. The recovery of migalastat from a cell-free membrane was close to 100%, indicating that non-specific binding was minimal for migalastat.

Caco-2 = human colonic adenocarcinoma cell line; HBSS = Hanks Balanced Salt Solution; HEPES = N-[2-Hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]; ND = not determined; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; P_{app} = apparent permeability; SD = standard deviation

2.6.5.3　　B 薬物動態：吸収（Caco-2 透過性）

エチレングリコールビス四酢酸処理した Caco-2 単層膜細胞透過性

Test Article: Migalastat HCl

Study No. 9AMICP2

Location in CTD: 4.2.2.2.2

Type of Study: Determination of the Permeability of Migalastat Across Caco-2 Cell Monolayers Treated with EGTA

Method: Caco-2 permeability of migalastat HCl (50 µmol/L) was evaluated in HBSS containing 10 mmol/L HEPES and 15 mmol/L glucose at pH 7.4. EGTA was absent in a negative control group, while 2.5 mmol/L of EGTA was mixed with the incubation buffer in a test group. Cells were incubated on the apical side (A-to-B) at 37°C with 5% CO_2 in a humidified incubator. Each determination was performed in triplicate. All samples were assayed by LC-MS/MS using electrospray ionisation. The Lucifer yellow concentration in the receiver samples was measured using a FluoStar fluorescence plate reader at excitation and emission wavelengths of 485 and 538 nm, respectively.

Tabulated Results:

Test Compound (Concentration)	**Migalastat Caco-2 Permeability (10^{-6} cm/s) and Recovery Results (Co-incubated with Atenolol and Propanolol)**			
	Control Group without EGTA		**Test Group with 2.5 mmol/L EGTA**	
	Mean P_{app} (A-to-B) (10^{-6} cm/s)	**Recovery (%)**	**Mean P_{app} (A-to-B) (10^{-6} cm/s)**	**Recovery (%)**
Migalastat HCl (50 µmol/L)	<0.74[a]	76-79[a]	13.4	71
Atenolol (50 µmol/L)	0.333	78	10.2	67
Propanolol (10 µmol/L)	21.6	110	27.1	93

Additional information: The permeation rate of the Lucifer yellow, an indicator of monolayer integrity, in those treated monolayers was much higher than the acceptance criterion of 0.8×10^{-6} cm/s confirming that the integrity of the monolayers was compromised by EGTA.

[a] The values were estimated based on LLOQ and sample preparation since the concentrations of test compound in the receivers were too low to be measured.
Caco-2 = human colonic adenocarcinoma cell line; EGTA = ethylene glycol tetraacetic acid; HBSS = Hanks Balanced Salt Solution; HEPES = N-[2-Hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = lower limit of quantitation; P_{app} = apparent permeability

2.6.5.4　　A 薬物動態：吸収：単回投与

マウスに単回静脈内・経口投与後の薬物動態及び絶対的バイオアベイラビリティ

Test Article: Migalastat HCl
Study No. RR1001-08
Location in CTD: 4.2.2.2.3

Species	C57BL/6 mice			
Route of Administration	IV	Oral		
Feeding condition:	Fed	Fasted		
Vehicle/Formulation:	Saline	Water		
Sample:	Plasma	Plasma		
Analyte:	Migalastat	Migalastat		
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS		
Dose (mg/kg) [1]	**3.66**	**12.2**	**36.6**	**122**
Gender (M/F)/Number of animals:	**30M (3M per time point)**	**24M (3M per time point)**		
PK parameters [mean]:				
AUC_{0-t} (µg•hr/mL)	1.52	5.9	18.4	33.5
C_{max} (µg/mL)	5.79	6.78	20.2	27.1
t_{max} (hr)	NA	0.25	0.25	0.5
$t_{1/2}$ (hr)	0.94	0.73	1.16	3.26
CL (L/hr/kg)	1.96	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	0.42	NA	NA	NA
F_{abs} (%)	NA	116	121	66.1

[1] 3.66, 12.2, 36.6 and 122 mg/kg were equivalent to 3, 10, 30 and 100 mg/kg as free base.
IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography – tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable

2.6.5.4　　B 薬物動態：吸収：単回投与

マウスに単回静脈内・経口投与後の薬物動態

Test Article: Migalastat HCl
Study No. RR1001-35
Location in CTD: 4.2.2.2.4

Species	C57BL/6 mice						
Route of Administration	IV			Oral			
Feeding condition:	Fed			Fasted			
Vehicle/Formulation:	Saline			Water			
Sample:	Plasma			Plasma			
Analyte:	Migalastat			Migalastat			
Assay:	LC-MS/MS			LC-MS/MS			
Dose (mg/kg) [1]	**1.22**	**3.66**	**12.2**	**3.66**	**12.2**	**36.6**	**122**
Gender (M/F)/Number of animals:	**40M (4M per time point)**			**36M (4M per time point)**			
PK parameters [mean]:							
AUC_{0-t} (µg•hr/mL)	0.575	1.19	5.8	1.48	4.52	8.13	23.6
C_{max} (µg/mL)	2.05	4.01	20.4	2.82	6.78	8.42	23.5
t_{max} (hr)	0.08	0.08	0.08	0.25	0.25	0.25	0.25
$t_{1/2}$ (hr)	NR	0.86	0.78	1.33	NR	1.82	1.6
CL (L/hr/kg)	1.72	2.49	1.72	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	0.36	0.76	0.38	NA	NA	NA	NA
F_{abs} (%)	NA	NA	NA	120	78	47 [a]	41 [a]

[a] In the absence of equivalent IV dose, bioavailability calculated relative to 12.2 mg/kg IV data.
[1] 1.22, 3.66, 12.2, 36.6 and 122 mg/kg were equivalent to 1, 3, 10, 30 and 100 mg/kg as free base.
IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography – tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable; NR = not reported, insufficient data for characterisation of terminal half-life

2.6.5.5　　A 薬物動態：吸収：反復投与

マウス 28 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR70575
Location in CTD: 4.2.3.2.1

Species	CByB6F1 mice								
Gender (M/F)/Number of animals:	18M/18F per group (3M/3F per group per time point)								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 28**								
Dose (mg/kg/day free base, once daily):	**500**			**1000**			**2000**		
PK parameters:	Overall	M	F	Overall	M	F	Overall	M	F
AUC_{0-t} (μg•hr/mL)	47.2	46.8	47.5	101	79.3	124	373	235	443
AUC_{0-24} (μg•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	444	NC	521
C_{max} (μg/mL)	80.0	80.6	79.4	103	94.3	112	165	116	214
t_{max} (hr)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	1
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3.25	3.07*	3.24
CL/F (mL/hr/kg)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	4550	NC	3870
V_z/F (mL/kg)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	21300	NC	18100

2.6.5.5　　A 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

マウス 28 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. ITR70575

Additional Information: Individual concentrations showed variability with CV% for mean concentrations ranging from 15-62%.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

* The $t_{1/2}$ estimate for 2000 mg/kg/day free base males was derived using all animal's data, including 12.3 µg/mL (n=1) at 8 hours post dose.

CV = coefficient of variation; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　B 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

マウス 26 週間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR70576
Location in CTD: 4.2.3.4.1.1

Species	CByB6F1 mice					
Gender (M/F)/Number of animals:	18M/18F per group (3M/3F per group per time point)					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Water					
Method of Administration:	Oral gavage					
Sample:	Plasma					
Analyte:	Migalastat					
Assay:	LC-MS/MS					
Sampling Day:	**Day 182**					
Dose (mg/kg/day free base, once daily):	**50 (F)**	**100 (M)**	**150 (F)**	**300 (M)**	**500 (F)**	**1000 (M)**
PK parameters:						
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	13500	25800	31800	38900	94400	121000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	32000	38900	94400	121000
C_{max} (ng/mL)	14400	27900	23800	27100	64100	49600
t_{max} (hr)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500

Additional Information: Individual concentrations showed variability with %CV for mean concentrations ranging from approximately 11.3 - 115% in males and 3 – 114% in females.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, $AUC_{0\text{-}t}$ = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

CV = coefficient of variation; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　C 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 5 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR5881
Location in CTD: 4.2.3.2.2

Species	Sprague-Dawley rats								
Gender (M/F)/Number of animals:	2M/2F per group								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 5**								
Dose (mg/kg/day, once daily): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters [mean]:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	24459	23713	25205	66598	67296	65900	177896	184138	171654
C_{max} (ng/mL)	10684	9426	11943	18976	16796	21157	32904	27347	38460
t_{max} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.63	0.75	0.50	0.38	0.50	0.25
$t_{1/2}$ (hr)	1.71	1.61	1.81	2.07*	NC	2.33	1.80*	1.58	NC

Additional Information: Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

* Values calculated based on the average of 3 animals.
[1] 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base.
F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　D 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 14 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR5850
Location in CTD: 4.2.3.2.3

Species	Sprague-Dawley rats								
Gender (M/F)/Number of animals:	6M/6F per group (3M/3F per group per time point)								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 1**								
Dose (mg/kg/day, once daily): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	19369	21480	17258	50387	55634	45139	161210	183895	138525
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	17388	50566	55834	NC	NC	184822	NC
C_{max} (ng/mL)	9484	9251	10146	19772	19761	19783	25606	31931	26271
t_{max} (hr)	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	4.0	0.5
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	7.78	3.37	2.97	NC	NC	3.24	NC

2.6.5.5　D 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 14 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. ITR5850

Sampling Day:	**Day 14**								
Dose (mg/kg/day, once daily): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	19152	18900	19059	53051	46794	59309	116664	123935	109394
Accumulation Ratio	0.99	0.88	1.10	1.05	0.84	1.31	0.72	0.67	0.79
C_{max} (ng/mL)	9513	8917	10109	19294	14886	27099	29693	35888	24423
t_{max} (hr)	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	0.5	1.0
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	NC	NC	NC	6.82	NC	NC	NC

Additional Information: Individual concentrations showed high variability with CV% for mean concentrations ranging from 3.0 - 173 on Day 1 and 7.5 - 173 on Day 14.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base.

CV = coefficient of variation; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　E 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

雄ラット受胎能試験の TK

Test Article: Migalastat HCl
Study No. AA31159
Location in CTD: 4.2.3.5.1.2

Species	Sprague-Dawley rats		
Gender (M/F)/Number of animals:	4M per group per time point		
Feeding condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	Water		
Method of Administration:	Oral gavage		
Sample:	Plasma		
Analyte:	Migalastat		
Assay:	LC-MS/MS		
Sampling Day:	**Day 50**		
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**2.5**	**10**	**25**
PK parameters:			
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	736	2030	6663
C_{max1} (ng/mL)	207	1397	1775
t_{max1} (hr)	0.550	0.567	0.550
C_{max2} (ng/mL) [a]	167	477	1338
t_{max2} (hr) [a]	7.00	7.00	7.00

2.6.5.5　　E 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

雄ラット受胎能試験の TK（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA31159

Additional Information: Individual concentrations showed variability with %CV for mean concentrations ranging from approximately 10.9 - 200%.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[a] The second dose was given approximately 6 hours ± 30 minutes after the first dose. Values relative to the first doses, not used for toxicokinetic comparison.

[1] 2.5, 10 and 25 mg/kg/day were equivalent to 2.05, 8.2 and 20.5 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); C_{max1} = maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; C_{max2} = maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used; CV = coefficient of variation; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; QOD = *quaque altera die* (every other day); t_{max1} = observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; t_{max2} = observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used

2.6.5.5　　F 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 26 週間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. AA17017
Location in CTD: 4.2.3.2.4

Species	Sprague-Dawley rats								
Gender (M/F)/Number of animals:	9M/9F per group (3M/3F per group per time point)								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 0 (first day of dosing)**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	23422	25245	21599	87171	102416	71925	199823	197921	201724
C_{max1} (ng/mL)	6553	4477	8630	15600	14267	16933	21633	18633	24633
C_{max2} (ng/mL)	4118	5110	3127	15867	17500	14233	28200	24533	31867
t_{max1} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	NC	2.31	NC	NC	NC	4.21	NC	NC	NC
Accumulation Ratio	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

2.6.5.5　　F 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 26 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17017

Sampling Day:	**Day 27**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	17446	20208	14388	67118	65553	68682	137767	124790	150743
C_{max1} (ng/mL)	5856	5297	7040	14092	10250	17933	19583	17567	21600
C_{max2} (ng/mL)	4170	5717	2623	10842	10177	11507	17050	14967	19133
t_{max1} (hr)	0.50	1.00	0.50	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Accumulation Ratio	0.745	0.800	0.666	0.770	0.640	0.955	0.689	0.631	0.747

2.6.5.5　　F 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 26 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17017

Sampling Day:	**Day 90**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	21682	20156	23207	79786	64765	94720	165022	141929	188114
C_{max1} (ng/mL)	6648	5113	8400	11740	8517	16267	14883	13767	16000
C_{max2} (ng/mL)	5437	4813	6060	11675	9293	14057	21317	18800	23833
t_{max1} (hr)	0.50	1.00	0.50	0.50	1.00	0.52	0.50	0.50	0.50
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	4.81	NC	4.33	4.62	NC	4.62	7.06	8.14	6.38
Accumulation Ratio	0.926	0.798	1.07	0.915	0.632	1.32	0.826	0.717	0.933

2.6.5.5　　F 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 26 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17017

Sampling Day:	**Day 181**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**100**			**500**			**1500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	30147	30079	30191	96659	85117	108184	248355	227526	269183
C_{max1} (ng/mL)	9758	6747	12770	13863	10740	17400	22433	21700	23167
C_{max2} (ng/mL)	6258	8137	4380	16583	15000	18167	24283	20967	27600
t_{max1} (hr)	0.50	0.52	0.50	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	3.82	3.47	4.05	4.40	4.26	4.55	5.12	7.57	3.40
Accumulation Ratio	1.29	1.19	1.40	1.11	0.831	1.50	1.24	1.15	1.33

Additional Information: Individual concentrations showed variability with %CV for mean concentrations ranging from approximately 3.0 – 173 on Day 0, 1.2 – 85 on Day 27, 3.5 – 136 on Day 90 and 3.2 – 131 on Day 181.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 100, 500 and 1500 mg/kg/day were equivalent to 82, 410 and 1230 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); C_{max1} = maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; C_{max2} = maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used; CV = coefficient of variation; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NR = not reported; QOD = *quaque altera die* (every other day); t_{max1} = observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; t_{max2} = observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used

2.6.5.5　　G 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 104 週間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. G4970
Location in CTD: 4.2.3.4.1.2

Species	Sprague-Dawley rats								
Gender (M/F)/Number of animals:	18M/18F per group (3-6M/3-6F per group per time point)								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 1**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**50**			**200**			**800**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	12000	11600	12400	34100	32700	34600	95400	89400	101000
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	NA	NA	NA	37600	32800	NA	102000	90000	NA
C_{max} (ng/mL)	6380	4420	8330	12500	10300	14700	20800	14000	27500
t_{max} (hr)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
$t_{1/2}$ (hr)	NA	NA	NA	8.34	2.80	NA	4.99	2.80	NA
CL/F (L/hr/kg)	3.42	3.54	3.30	4.80	5.00	4.72	6.85	7.31	6.45

2.6.5.5　　G 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 104 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. G4970

Sampling Day:	**Week 29**								
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**50**			**200**			**800**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	13800	12600	14900	33300	29500	37100	103000	89500	117000
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	5880	4730	7030	12300	9970	14600	20900	16900	26600
t_{max} (hr)	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	7.0	6.5
$t_{1/2}$ (hr)	4.46	3.28	NA	5.66	3.64	6.71	NA	5.61	8.80
CL/F (L/hr/kg)	2.96	3.24	2.73	4.90	5.55	4.41	6.33	7.30	5.58

2.6.5.5 G 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

ラット 104 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. G4970

Sampling Day:	**Week 37**		
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**1200**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	176000	184000	168000
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	25700	27600	24200
t_{max} (hr)	7.0	7.0	6.5
$t_{1/2}$ (hr)	5.48	4.83	6.29
CL/F (L/hr/kg)	6.33	7.30	5.58

Additional Information: Individual concentrations showed variability with %CV for mean concentrations ranging from 15 - 160.
Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, $AUC_{0\text{-}t}$ = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 50, 200 and 800/1200 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 656/984 mg/kg/day as free base.
The high dose of 800 mg/kg/day was increased to 1200 mg/kg/day as of Week 36. Samples for toxicokinetic analysis were only collected from the high-dose group on Week 37.
Although this study used twice daily dosing, C_{max1} and t_{max1} were not differentiated from C_{max2} and t_{max2}. C_{max} and its associated t_{max} were based on the highest peak concentration regardless of whether it occurred after the first or second daily dose.
BID = *bis in die* (twice daily); C_{max1} = maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; C_{max2} = maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used; CV = coefficient of variation; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not available; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day); t_{max1} = observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; t_{max2} = observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used

2.6.5.5　　H 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

妊娠ウサギ胚・胎児発生毒性試験の TK

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA26552

Location in CTD: 4.2.3.5.2.3

Species	New Zealand White rabbits (pregnant)					
Gender (M/F)/Number of animals:	3F per group					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Water					
Method of Administration:	Oral gavage					
Sample:	Plasma					
Analyte:	Migalastat					
Assay:	LC-MS/MS					
Sampling Day:	**Gestation Day 6 (day of first dose)**			**Gestation Day 19**		
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**120**	**300**	**750** [a]	**120**	**300**	**750** [a]
PK parameters [mean (SD)]:						
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	190972 (52331)	405153 (10106)	1113000 (NA)	334988 (122406)	1101185 (349566)	1962625 (NA)
$AUC_{0\text{-}6}$ (ng•hr/mL)	68803 (23506)	147120 (4051)	308850 (NA)	145490 (41844)	352618 (101110)	59575 (NA)
$AUC_{6\text{-}24}$ (ng•hr/mL)	122169 (28900)	258033 (11915)	804150 (NA)	189498 (81803)	748567 (256819)	1367050 (NA)
C_{max1} (ng/mL)	23133 (7457)	41600 (1970)	76250 (NA)	39167 (4554)	75700 (15185)	116650 (NA)
t_{max1} (hr)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.50 (NA)	1.00 (0.00)	1.67 (0.577)	1.50 (NA)

2.6.5.5　　H 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

妊娠ウサギ胚・胎児発生毒性試験の TK（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA26552

Sampling Day:	**Gestation Day 6 (day of first dose)**			**Gestation Day 19**		
Dose (mg/kg/day, given BID ~6 hours apart): [1]	**120**	**300**	**750**	**120**	**300**	**750**
PK parameters [mean (SD)]:						
C_{max2} (ng/mL)	27300 (10746)	50067 (8663)	112000 (NA)	31033 (9028)	78200 (18143)	123500 (NA)
t_{max2} (hr)	8.00 (0.00)	8.00 (0.00)	8.00 (NA)	8.00 (0.00)	8.00 (0.00)	8.00 (NA)
Accumulation Ratio	NA	NA	NA	1.85	2.71	1.81

Additional Information: Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 120, 300 and 750 mg/kg/day were equivalent to 98, 246 and 615 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); C_{max1} = maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; C_{max2} = maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable (SD not calculated when n<3); QOD = *quaque altera die* (every other day); SD = standard deviation; t_{max1} = observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; t_{max2} = observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used

[a] n=2: One animal of 750 mg/kg/day group was not gravid and was excluded from toxicokinetic analysis.

2.6.5.5　　I 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

イヌ 5 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR6003
Location in CTD: 4.2.3.2.5

Species	Beagle dogs								
Gender (M/F)/Number of animals:	1M/1F per group								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 1**								
Dose (mg/kg/day): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	117099.5	115301	118898	332339.0	310435	354243	477673.0	549489	405857
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	121122	117424	124820	375222	NA	375222	490958	555753	426163
C_{max} (ng/mL)	36473	32323	40624	105086	89939	120233	154649	178805	130494
t_{max} (hr)	1.0	1.0	1.0	1.5	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0
$t_{1/2}$ (hr)	2.935	2.09	3.78	3.44	NC	3.44	2.695	2.07	3.32

2.6.5.5　I 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

イヌ 5 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. ITR6003

Sampling Day:	**Day 5**								
Dose (mg/kg/day): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	108198.5	105475	110922	333227.5	299069	367386	613150.0	668745	557555
C_{max} (ng/mL)	30957	28972	32941	104654	86625	122683	193880	201750	186010
t_{max} (hr)	1.5	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
$t_{1/2}$ (hr)	2.44	2.44	NC	3.98	NC	3.98	2.55	2.05	3.05
Accumulation Ratio	0.92	0.91	0.93	1.00	0.96	1.04	1.30	1.22	1.37

Additional Information: Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base.

F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　J 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

イヌ 14 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. ITR2978
Location in CTD: 4.2.3.2.6

Species	Beagle dogs
Gender (M/F)/Number of animals:	3M/3F per group
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Water
Method of Administration:	Oral gavage
Sample:	Plasma
Analyte:	Migalastat
Assay:	LC-MS/MS

2.6.5.5　　J 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

イヌ 14 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. ITR2978

Sampling Day:	**Day 1**								
Dose (mg/kg/day): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters [mean (%CV)]:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	106615 (29.2%)	80621 (23.2%)	132608 (5.4%)	368967 (21.3%)	342806 (16.2%)	395128 (25.7%)	465104 (37.4%)	384570 (46.2%)	545639 (28.8%)
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	107997 (29.5%)	81392 (23.7%)	134602 (5.2%)	372248 (21.8%)	344834 (16.3%)	399662 (26.4%)	523136 (24.1%)	484253 (19.1%)	549057 (28.8%)
C_{max} (ng/mL)	38950 (29.2%)	31467 (31.8%)	46433 (15.9%)	123567 (19.6%)	116133 (19.7%)	131000 (21.2%)	154433 (39.2%)	120867 (48.2%)	188000 (25.9%)
t_{max} (hr)	1.42 (14.4%)	1.33 (21.7%)	1.50 (0.0%)	1.67 (15.5%)	1.83 (15.7%)	1.50 (0.0%)	1.92 (19.6%)	1.83 (15.7%)	2.00 (25.0%)
$t_{1/2}$ (hr)	4.74 (32.6%)	4.38 (41.9%)	5.10 (29.2%)	4.26 (8.7%)	4.45 (10.6%)	4.07 (3.0%)	5.33 (10.5%)	5.53 (10.9%)	5.20 (11.8%)

2.6.5.5　　J 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

イヌ 14 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. ITR2978

Sampling Day:	**Day 14**								
Dose (mg/kg/day): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters [mean (%CV)]:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	100920 (16.9%)	92084 (3.0%)	109755 (20.0%)	347363 (28.0%)	320304 (41.9%)	374421 (15.9%)	513332 (22.2%)	489409 (0.3%)	537256 (32.6%)
AUC_{0-inf} (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	32867 (22.8%)	33800 (24.0%)	31933 (26.5%)	122733 (33.9%)	101133 (46.2%)	144333 (18.8%)	172167 (18.3%)	174667 (18.8%)	169667 (21.9%)
t_{max} (hr)	1.50 (29.8%)	1.83 (15.7%)	1.17 (24.7%)	1.50 (21.1%)	1.67 (17.3%)	1.33 (21.7%)	1.75 (23.9%)	1.67 (17.3%)	1.83 (31.5%)
$t_{1/2}$ (hr)	4.53 (22.5%)	4.98 (23.0%)	4.08 (20.1%)	6.21 (28.9%)	5.63 (28.5%)	6.79 (31.0%)	5.86 (18.6%)	6.28 (12.8%)	5.44 (25.0%)
Accumulation Ratio	0.950	1.14	0.83	0.940	0.93	0.95	1.10	1.27	0.98

Additional Information: Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base.

CV = coefficient of variation; F =female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day)

2.6.5.5　　K 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 14 日間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. AA17225
Location in CTD: 4.2.3.2.7

Species	Cynomolgus monkeys								
Gender (M/F)/Number of animals:	2M/2F (1M/1F per group per time point)								
Feeding condition:	Fed								
Vehicle/Formulation:	Water								
Method of Administration:	Oral gavage								
Sample:	Plasma								
Analyte:	Migalastat								
Assay:	LC-MS/MS								
Sampling Day:	**Day 0 (first day of dosing)**								
Dose (mg/kg/day given BID ~6 hours apart): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	69829	82233	57360	227891	232116	223937	329996	311298	348643
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	70967	83530	58091	236022	238698	227882	333999	314205	354443
C_{max1} (ng/mL)	9920	14800	12500	46050	55900	39900	51100	53500	49800
C_{max2} (ng/mL)	7840	9480	9060	21650	19800	23500	45050	52400	37700
t_{max1} (hr)	2.00	1.50	2.00	2.00	2.00	1.52	1.00	2.00	1.00
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	4.50	4.16	3.76	6.78	5.15	3.60	3.31	3.82	3.50

2.6.5.5　K 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 14 日間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17225

Sampling Day:	**Day 12**								
Dose (mg/kg/day given BID ~6 hours apart): [1]	**50**			**200**			**500**		
PK parameters:	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F	Pooled (M and F)	M	F
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	57513	60237	54794	221785	274385	169062	256309	152841	359852
AUC_{0-inf} (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max1} (ng/mL)	7685	8590	7800	30900	45000	25700	33250	28000	43400
C_{max2} (ng/mL)	6755	6600	7020	27600	39700	17300	21800	17200	28400
t_{max1} (hr)	1.50	1.50	1.00	2.00	2.00	1.48	1.00	1.00	2.02
t_{max2} (hr)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (hr)	4.35	4.10	3.62	8.75	4.23	12.72	3.44	3.54	3.71
Accumulation Ratio	0.824	0.733	0.955	0.973	1.18	0.755	0.777	0.491	1.03

Additional Information: Variability was not calculated in this study.

Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL (MGM116016)

[1] 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); C_{max1} = maximum observed plasma concentration after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; C_{max2} = maximum observed plasma concentration after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; NR = not reported; QOD = *quaque altera die* (every other day); t_{max1} = observed time to reach C_{max} after the first dose in studies where twice daily dosing regimen was used; t_{max2} = observed time to reach C_{max} after the second dose in studies where twice daily dosing regimen was used

2.6.5.5　　L 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 39 週間反復投与（TK 試験）

Test Article: Migalastat HCl
Study No. AA17227
Location in CTD: 4.2.3.2.8

Species	Cynomolgus monkeys
Gender (M/F)/ Number of animals:	Day 0: 9M/9F (50 and 200 mg/kg/day) and 11M/11F (500 mg/kg/day) Day 22: 9M/9F (50 and 200 mg/kg/day) and 11M/11F (500 mg/kg/day) Day 84: 9M/9F (50 and 200 [a] mg/kg/day) and 11M/11F (500 mg/kg/day) Day 175: 6M/6F (50 and 200 mg/kg/day) and 8M/8F (500 mg/kg/day) Day 267/268: 4M/4F (50 and 200 mg/kg/day) and 6M/6F (500 mg/kg/day)
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Water
Method of Administration:	Oral gavage
Sample:	Plasma
Analyte:	Migalastat
Assay:	LC-MS/MS

2.6.5.5　　L 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 39 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17227

Sampling Day:	**Day 0 (first day of dosing)**						**Day 22**					
Dose (mg/kg/day given BID ~6 hours apart): [1]	**50**		**200**		**500**		**50**		**200**		**500**	
PK parameters [mean (SD)]:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng•hr/mL)	54525 (7318)	70616 (18582)	171203 (28628)	192441 (52485)	318534 (63666)	299164 (65049)	NC	NC	NC	NC	NC	NC
$AUC_{ss(0\text{-}\tau)}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	46662 (8738)	59054 (10350)	159786 (62526)	177366 (53299)	279993 (65950)	292593 (40744)
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•hr/mL)	55109 (7835)	72092 (19570)	173808 (29193)	195731 (52507)	332354 (63973)	304127 (64782)	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	10123 (1703)	11537 (2341)	29600 (9125)	30600 (8867)	48191 (16352)	51582 (20851)	4349 (1108)	5991 (1054)	16069 (8858)	18244 (9798)	27600 (7821)	28000 (6480)
t_{max} (hr)	1.30 (0.524)	1.00 (0.00)	1.41 (0.557)	1.12 (0.330)	1.36 (0.505)	1.27 (0.467)	1.67 (0.500)	1.22 (0.434)	1.56 (0.527)	1.67 (0.500)	1.55 (0.522)	1.73 (0.907)
$t_{1/2}$ (hr)	3.48 (0.520)	3.89 (0.945)	3.62 (0.317)	3.57 (0.540)	3.69 (0.481)	3.60 (0.714)	3.74 (0.520)	3.50 (0.477)	4.24 (0.834)	4.16 (0.730)	4.66 (1.280)	4.77 (1.613)
Accumulation Ratio	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.86	0.87	0.92	0.94	0.90	1.01

2.6.5.5　　L 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 39 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17227

Sampling Day:	**Day 84**						**Day 175**					
Dose (mg/kg/day given BID ~6 hours apart): [1]	**50**		**200**		**500**		**50**		**200**		**500**	
PK parameters [mean (SD)]:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	58756 (15628)	61812 (21247)	182961 (76981)	181989 (62828)	300600 (79789)	305411 (69944)	55909 (11359)	58093 (14550)	170259 (44669)	161286 (34646)	293110 (48107)	273794 (64757)
AUC_{0-inf} (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	8747 (9018)	5992 (1891)	21422 (13258)	18813 (4547)	29055 (4307)	32700 (7624)	6807 (2069)	6762 (1547)	16917 (3830)	14533 (2279)	29350 (8320)	26613 (5619)
t_{max} (hr)	2.00 (1.58)	2.89 (1.45)	2.02 (0.866)	1.88 (0.354)	1.64 (0.505)	2.09 (1.04)	1.67 (0.516)	1.67 (0.523)	1.67 (0.516)	1.84 (0.411)	1.88 (0.354)	1.38 (0.518)
$t_{1/2}$ (hr)	4.06 (0.849)	4.15 (1.02)	4.32 (0.808)	4.21 (0.524)	4.41 (0.685)	4.46 (0.789)	3.97 (0.917)	4.12 (0.706)	4.10 (0.540)	4.22 (0.727)	4.60 (1.06)	4.67 (0.804)
Accumulation Ratio	1.08	0.88	1.07	0.86	0.97	1.05	1.04	0.85	1.07	0.84	0.95	0.94

2.6.5.5　　L 薬物動態：吸収：反復投与（続き）

サル 39 週間反復投与（TK 試験）（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA17227

Sampling Day:	**Day 267 (F)/268 (M)**					
Dose (mg/kg/day given BID ~6 hours apart): [1]	**50**		**200**		**500**	
$AUC_{ss(0-\tau)}$ (ng•hr/mL)	67669 (11850)	76028 (26257)	173379 (28482)	196031 (35869)	314649 (94321)	296996 (81979)
AUC_{0-inf} (ng•hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} (ng/mL)	5843 (1361)	9258 (4819)	20375 (4286)	19800 (4080)	22750 (5235)	26083 (8045)
t_{max} (hr)	1.75 (0.500)	1.50 (0.577)	1.77 (0.481)	1.76 (0.484)	1.83 (0.408)	1.83 (0.408)
$t_{1/2}$ (hr)	3.68 (0.796)	4.05 (0.432)	4.13 (0.621)	4.08 (0.295)	4.60 (0.899)	4.42 (0.590)
Accumulation Ratio	1.22	0.98	1.12	1.22	1.05	0.92

Additional Information: Predicted exposure in patients following a dose of a migalastat HCl 150 mg QOD is: C_{max} 1180 ng/mL, AUC_{0-t} = 9033 ng•hr/mL. (MGM116016)

[1] 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; QOD = *quaque altera die* (every other day); SD = standard deviation

[a] 200 mg/kg/day female; n =8: One female in 200 mg/kg/day group, no. 2272, sacrificed for ethical reasons (broken leg) on day 26 was replaced by female no. 2301. This replacement female was submitted to the same observations as the other animals, except for toxicokinetics, where blood sampling was only performed during week 13.

2.6.5.6　　薬物動態：血漿タンパク結合

マウス、ラット、サル及びヒト血漿タンパク結合

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No. 0332-145-02

Location in CTD: 4.2.2.3.1

Study System: Equilibrium dialysis

Target entity, Test System and Method: Plasma proteins (CD-1 mouse, Sprague-Dawley rat, cynomolgus monkey, human), LSC

Species		**% Unbound at 24 hours (mean ± standard deviation)**					
	Conc. Tested	**Migalastat HCl (1 µmol/L)**	**Migalastat HCl (10 µmol/L)**	**Migalastat HCl (100 µmol/L)**	**Caffeine (10 µmol/L)**	**Lidocaine (10 µmol/L)**	**Warfarin (10 µmol/L)**
CD-1 mouse		122 ± 3.19	101 ± 5.23	104 ± 0.990	95.8 ± 6.38	68.2 ± 5.56	<0.155 ± 0.000
Sprague-Dawley rat		91.9 ± 22.8	114 ± 0.725	108 ± 2.86	79.5 ± 8.36	28.7 ± 5.85	<0.155 ± 0.000
Cynomolgus monkey		105 ± 6.58	88.3 ± 18.1	103 ± 8.88	92.6 ± 0.894	47.2 ± 3.27	<0.155 ± 0.000
Human		100 ± 12.1	98.1 ± 5.04	111 ± 1.34	86.9 ± 1.64	43.0 ± 7.50	<0.155 ± 0.000
Phosphate-buffered saline		91.8 ± 2.34	104 ± 2.41	106 ± 0.735	102 ± 4.10	95.4 ± 2.16	<0.155 ± 0.000

LSC = liquid scintillation counting

2.6.5.7　　A 薬物動態：組織分布

マウスでの組織内分布

Test Article: Migalastat HCl

Study No. RR1001-08

Location in CTD: 4.2.2.2.3

Tissue distribution profile after single oral administration of Migalastat HCl (Study 29)

Species: C57BL/6 mice

Gender (M/F)/Number of animals: 24M (3M per time point)

Feeding condition: Fasted

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: Oral gavage

Dose (mg/kg) [1]: 122

Assay: LC-MS/MS

	Mean Concentration ± Standard Error of the Mean (µmol/L)[a]								**AUC (µmol•hr/L)**	**$t_{1/2}$ (hr)**
Tissues/organs	**0.25 hours**	**0.5 hours**	**1 hour**	**2 hours**	**3 hours**	**4 hours**	**8 hours**	**24 hours**		
Brain	1.4 ± 0.3	2.0 ± 0.2	3.6 ±0.5	2.9 ± 0.4	2.8 ± 0.1	2.4 ± 0.2	4.7 ± 0.8	0.6 ± 0.1	57	>8
Heart	33 ± 8.3	40 ± 3.4	39 ± 3.9	15 ± 4.5	16 ± 3.0	4.3 ± 0.5	7.3 ± 3.1	0.32 ± 0.1	139	3.6
Kidneys	818 ± 237	918 ± 83	530 ± 95	172 ± 60	81 ± 6.6	24 ± 4.1	16 ± 6.0	0.36 ± 0.03	1274	2.3
Skin	51 ± 11	75 ± 3.4	67 ±10	18 ± 3.7	25 ± 6.5	4.4 ± 0.9	15 ± 6.2	0.13 ± 0.04	201	3.8
Plasma	139 ± 33	166 ± 14	109 ± 7.5	21.2 ± 4.8	9.3 ± 2.8	2.9 ± 0.3	0.6 ± 0.08	0.03 ± 0.006	205	3.26

2.6.5.7　　A 薬物動態：組織分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. RR1001-08

Tissue distribution profile after single oral administration of Migalastat HCl (Study 29)

Species: C57BL/6 mice

Gender (M/F)/Number of animals: 24M (3M per time point)

Feeding condition: Fasted

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: Oral gavage

Dose (mg/kg) [1]: 122

Assay: LC-MS/MS

	The tissue to plasma concentration ratio (Mean ± Standard Error of the Mean)							
Tissues	**0.25 hours**	**0.5 hours**	**1 hour**	**2 hours**	**3 hours**	**4 hours**	**8 hours**	**24 hours**
Brain/Plasma	0.010 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.032 ± 0.003	0.14 ± 0.011	0.37 ± 0.11	0.82 ± 0.04	8.78 ± 1.62	19.45 ± 2.85
Heart/Plasma	0.24 ± 0.007	0.24 ± 0.0004	0.35 ± 0.019	0.65 ± 0.004	2.12 ± 0.80	1.52 ± 0.27	12.42 ± 4.06	9.66 ± 2.34
Kidneys/Plasma	5.73 ± 0.40	5.60 ± 0.64	4.79 ± 0.55	7.70 ± 0.93	11.57 ± 4.80	8.00 ± 0.72	26.39 ± 7.53	12.49 ± 3.07
Skin/Plasma	0.37 ± 0.015	0.46 ± 0.018	0.61 ± 0.055	0.86 ± 0.019	2.82 ± 0.35	1.48 ± 0.17	24.23 ± 8.67	5.39 ± 2.26

2.6.5.7　　A 薬物動態：組織分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. RR1001-08

Tissue distribution profile following 7 days administration of Migalastat HCl in drinking water (Study 48)

Species: C57BL/6 mice

Gender (M/F)/Number of animals: 40M (5M per time point)

Feeding condition: Fed

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: *ad libitum* in drinking water

Dose (mg/kg) [1]: 122

Assay: LC-MS/MS

Mean Concentration ± Standard Error of the Mean (µmol/L)[a]

Tissues/organs	0 hour (9 AM)	4 hours (1 PM)	8 hours (5 PM)	12 hours (9 PM)	16 hours (1 AM)	20 hours (5 AM)	24 hours (9 AM)
Brain	1.7 ± 0.2	2.1 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.1	3.1 ± 0.2	2.0 ± 0.3	1.9 ± 0.1
Heart	1.0 ± 0.3	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1	3.9 ± 0.8	7.7 ± 1.0	3.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3
Kidneys	8.4 ± 2.3	7.7 ± 2.6	3.6 ± 0.4	24.4 ± 7.8	47 ± 9	28.7 ± 5.3	10.6 ± 2.5
Skin	1.3 ± 0.4	0.9 ± 0.1	2.5 ± 0.9	5.1 ± 0.6	7 ± 1.0	3.3 ± 0.4	1.6 ± 0.3
Plasma	2.6 ± 0.5	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.4	10.9 ± 4.0	23 ± 4.3	11.2 ± 2.2	5.3 ± 1.4

2.6.5.7　　A 薬物動態：組織分布（続き）

マウスでの組織内分布（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. RR1001-08

Tissue distribution profile following 7 days administration of Migalastat HCl in drinking water (Study 48)

Species: C57BL/6 mice

Gender (M/F)/Number of animals: 40M (5M per time point)

Feeding condition: Fed

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: *ad libitum* in drinking water

Dose (mg/kg) [1]: 122

Assay: LC-MS/MS

The tissue to plasma concentration ratio (Mean ± Standard Error of the Mean)

Tissues	0 hour (9 AM)	4 hours (1 PM)	8 hours (5 PM)	12 hours (9 PM)	16 hours (1 AM)	20 hours (5 AM)	24 hours (9 AM)
Brain/Plasma	0.78 ± 0.18	1.88 ± 0.28	2.02 ± 0.70	0.31 ± 0.10	0.15 ± 0.22	0.22 ± 0.06	0.44 ± 0.08
Heart/Plasma	0.38 ± 0.07	0.60 ± 0.02	0.42 ± 0.10	0.50 ± 0.10	0.37 ± 0.04	0.32 ± 0.06	0.30 ± 0.04
Kidneys/Plasma	3.25 ± 0.76	7.16 ± 2.45	4.13 ± 0.90	2.48 ± 0.20	2.06 ± 0.08	2.62 ± 0.27	2.05 ± 0.14
Skin/Plasma	0.50 ± 0.09	0.77 ± 0.07	2.61 ± 0.97	0.84 ± 0.32	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.02

[a] This unit also means mmol/g. To derive approximate molar concentrations, one gram of tissue was estimated as one mL of volume.
[1] 122 mg/kg was equivalent to 100 mg/kg as free base.
LC-MS/MS = liquid chromatography – tandem mass spectrometry; M = male

2.6.5.7　　B 薬物動態：組織分布（続き）

ラットでの組織内分布

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl
Study No. XBL08605
Location in CTD: 4.2.2.3.2

Species: Sprague-Dawley rats

Gender (M/F)/Number of animals: 18M (3M per time point)

Feeding condition: Fasted

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: Oral gavage

Dose (mg/kg) [1]: 50

Radionuclide: ^{14}C

Specific Activity: 23.8 mCi/mmol

Assay: Liquid scintillation counting

	Mean Concentration ± Standard Deviation (µg Eq./g)					
Tissues/organs	**1 hour**	**4 hours**	**8 hours**	**12 hours**	**24 hours**	**72 hours**
Brain	0.384 ± 0.03	0.453 ± 0.05	0.306 ± 0.09	0.140 ± 0.12	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
Heart	1.18 ± 0.19	0.428 ± 0.05	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
Kidneys	33.1 ± 6.20	6.01 ± 1.46	1.03 ± 0.15	0.905 ± 0.35	0.324 ± 0.10	0.000 ± 0.00
Liver	11.2 ± 0.36	2.33 ± 0.15	1.01 ± 0.08	0.493 ± 0.43	0.363 ± 0.04	0.000 ± 0.00
Muscle	0.861 ± 0.06	0.346 ± 0.05	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
Skin	2.38 ± 0.49	0.317 ± 0.28	0.172 ± 0.30	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
Spleen	1.36 ± 0.25	0.604 ± 0.07	0.321 ± 0.04	0.299 ± 0.03	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00

2.6.5.7　　B 薬物動態：組織分布（続き）

ラットでの組織内分布（続き）

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No. XBL08605

	Mean Concentration ± Standard Deviation (ng Eq./g)					
	1 hour	**4 hours**	**8 hours**	**12 hours**	**24 hours**	**72 hours**
Blood	3030 ± 449	870 ± 21.5	303 ± 55.0	227 ± 21.0	46 ± 79.7	0.0 ± 0.00
Plasma	4367 ± 625	531 ± 46.5	139 ± 15.7	116 ± 101	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00
Tissues	**The tissue to plasma concentration ratio (Mean ± Standard Error of the Mean)**					
Brain/Plasma	0.09 ± 0.02	0.86 ± 0.11	2.23 ± 0.79	1.25[a]	NC	NC
Liver/Plasma	2.61 ± 0.45	4.41 ± 0.20	7.27 ± 0.33	4.24 ± 0.18	NC	NC
Heart/Plasma	0.27 ± 0.04	0.81 ± 0.07	NC	NC	NC	NC
Kidney/Plasma	7.72 ± 2.11	11.29 ± 2.27	7.39 ± 0.75	6.22 ± 1.01	NC	NC
Spleen/Plasma	0.32 ± 0.09	1.14 ± 0.10	2.33 ± 0.45	1.81 ± 0.04	NC	NC
Muscle/Plasma	0.20 ± 0.01	0.65 ± 0.07	NC	NC	NC	NC
Skin/Plasma	0.54 ± 0.04	0.91 ± 0.03	3.31[a]	NC	NC	NC
Blood/Plasma	0.69 ± 0.05	1.65 ± 0.11	2.18 ± 0.32	1.30 ± 0.22	NC	NC

[1] 50 mg/kg was equivalent to 41 mg/kg as free base.
[a] n=1, BLQ (below the limit of quantitation) for other animals
NC = not calculated

2.6.5.8　　薬物動態：妊娠又は授乳動物における試験

ラットでの胎盤通過性及び乳汁中排泄

Test Article: Migalastat HCl
Study No. AA94762
Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

Placental transfer

Species: Sprague-Dawley rats

Gestation day/Number of animals: Gestation Day 20/6F per group (3F per time point) and 6 litters per group (3 litters per time point)

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: Oral gavage

Analyte: Migalastat

Assay: LC-MS/MS

Dose (mg/kg/day, dosed BID): [1]	0		50		200		1000	
Time (hr)	1	4	1	4	1	4	1	4
Concentration (ng/mL) [mean]								
Dam:	0	0	4854	245	10310	1220	21133	12667
Foetus:	0	0	274	208	888	383	2317	2290

2.6.5.8　　薬物動態：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの胎盤通過性及び乳汁中排泄（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. AA94762

Excretion into Milk

Lactating Date/Number of Animals: Lactation Day 15/6F per group (3F per time point)

Dose (mg/kg/day, dosed BID): [1]	0		50		200		1000	
Time (hr)	1	4	1	4	1	4	1	4
Concentration (ng/mL) [mean]								
Milk:	0	0	2087	1765	6300	3297	16133	11977
Plasma:	52	0	1847	218	7163	1290	25533	4867
Milk/plasma:	0	NA	1.13	8.10	0.88	2.56	0.63	2.46

Additional Information: A single female in the control group had measurable migalastat concentrations in plasma on Day 15 of lactation at 1 hour after dosing. The female had 156 ng/mL of migalastat, approximately 5 times the LLOQ (29.4 ng/mL). It should be noted, however, that this female had no measurable migalastat in the milk at the same time-point as opposed to all treated females that had measurable levels of migalastat in both the milk and plasma. It was therefore considered unlikely that there was any inadvertent systemic migalastat exposure to the female.

[1] 50, 200 and 500 mg/kg/day were equivalent to 41, 164 and 410 mg/kg/day as free base.

BID = *bis in die* (twice daily); F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = lower limit of quantification; NA = not applicable

2.6.5.9　　薬物動態：代謝：*In vitro*

ヒト、サル及びラット肝細胞中の代謝安定性

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No. 0332-145-01

Location in CTD: 4.2.2.4.1

Study System: Cryopreserved pooled human, cynomolgus monkey, and Sprague-Dawley rat hepatocytes were incubated with 1 and 100 µmol/L ^{14}C-Migalastat HCl for 0, 1, 2, and 4 hours. The samples were analyzed for loss of parent and formation of metabolites using liquid chromatography with radiometric detection.

		Amount of ^{14}C-Migalastat Remaining (% of the 0-hour control)		
	Time (hours):	1	2	4
	Species			
^{14}C-Migalastat HCl (1 µmol/L)	Human	101	104	105
^{14}C-Migalastat HCl (100 µmol/L)	Human	110	101	101
^{14}C-Migalastat HCl (1 µmol/L)	Monkey	102	104	101
^{14}C-Migalastat HCl (100 µmol/L)	Monkey	115	103	107
^{14}C-Migalastat HCl (1 µmol/L)	Rat	102	105	104
^{14}C-Migalastat HCl (100 µmol/L)	Rat	103	104	102

Values presented are the average of duplicate samples.

2.6.5.10　薬物動態：代謝：*In vivo*

ラットでの代謝

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl
Study No.: XBL08605
Location in CTD: 4.2.2.3.2

Species: Sprague-Dawley rats

Gender (M/F)/Number of animals: 18M (3M per time point, plasma), 4M/4F (urine and faeces)

Feeding Condition: Fasted

Vehicle/Formulation: Water

Method of Administration: Oral gavage

Dose (mg/kg) [1]: 50

Radionuclide: ^{14}C

Specific Activity: 23.8 mCi/mmol

			% of Compound in Sample													
Sample	**Sampling Time**	**% of Dose in Sample**	**Parent (peak 8)**	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**	**Peak 4**	**Peak 5**	**Peak 6**	**Peak 7**	**Peak 9**	**Peak 10**	**Peak 11**	**Peak 12**	**Peak 13**	**Other peaks**
Plasma	1 hr	NR	92.5	ND	ND	ND	2.30	ND	0.77	1.54	ND	ND	ND	ND	ND	2.88
	4 hr	NR	51.9	9.62	ND	1.60	1.60	1.60	4.81	8.33	8.65	1.28	1.92	5.13	ND	3.54
	8 hr	NR	51.3	18.0	10.3	ND	ND	ND	ND	ND	10.3	ND	ND	ND	10.3	<0.01
	12 hr	NR	36.9	36.9	ND	ND	6.15	ND	ND	ND	7.69	ND	ND	ND	ND	12.3
Urine (M)	0-8 hr	29.6	67.7	ND	ND	ND	ND	ND	5.74	3.65	ND	1.72	1.56	ND	ND	19.6
	8-24 hr	2.45	74.7	ND	ND	ND	5.53	2.31	4.44	4.53	ND	1.98	0.9	ND	ND	5.8
Urine (F)	0-8 hr	21.7	89.9	ND	ND	ND	ND	ND	4.42	2.44	ND	1.32	ND	ND	ND	1.90
	8-24 hr	4.12	80.5	ND	ND	ND	3.15	1.93	2.25	1.82	ND	2.23	ND	ND	ND	8.08

2.6.5.10　薬物動態：代謝：*In vivo*（続き）

ラットでの代謝（続き）

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No.: XBL08605

			% of Compound in Sample													
Sample	**Sampling Time**	**% of Dose in Sample**	**Parent (peak 8)**	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**	**Peak 4**	**Peak 5**	**Peak 6**	**Peak 7**	**Peak 9**	**Peak 10**	**Peak 11**	**Peak 12**	**Peak 13**	**Other peaks**
Faeces (M)	0-24 hr	59.7	78.6	ND	ND	ND	3.73	6.44	ND	1.53	ND	ND	ND	ND	ND	9.70
	24-48 hr	2.66	78.3	ND	ND	4.07	ND	6.51	ND	2.50	ND	ND	ND	ND	ND	8.61
Faeces (F)	0-24 hr	49.5	82.7	ND	ND	ND	ND	7.93	ND	2.48	ND	ND	ND	ND	ND	6.90
	24-48 hr	10.6	82.5	ND	ND	2.59	ND	3.18	ND	2.27	ND	ND	ND	ND	ND	3.24
		AUC_{0-12} (µg-Eq.•hr/g)														
Sample	**Sampling Time**	**Total**	**Parent (peak 8)**	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**	**Peak 4**	**Peak 5**	**Peak 6**	**Peak 7**	**Peak 9**	**Peak 10**	**Peak 11**	**Peak 12**	**Peak 13**	**Other peaks**
Plasma	0-12 hr	11.4	9.42	0.34	0.04	0.04	0.26	0.04	0.17	0.28	0.24	0.04	0.04	0.11	0.04	0.01
		% AUC														
Sample	**Sampling Time**	**Total**	**Parent (peak 8)**	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**	**Peak 4**	**Peak 5**	**Peak 6**	**Peak 7**	**Peak 9**	**Peak 10**	**Peak 11**	**Peak 12**	**Peak 13**	**Other peaks**
Plasma	0-12 hr	100	82.6	2.98	0.35	0.35	2.28	0.35	1.49	2.46	2.11	0.35	0.35	0.96	0.35	3.07

2.6.5.10 薬物動態：代謝：*In vivo*（続き）

ラットでの代謝（続き）

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No.: XBL08605

		% of Dose														
Sample	**Sampling Time**	**Total**	**Parent (peak 8)**	**Peak 1**	**Peak 2**	**Peak 3**	**Peak 4**	**Peak 5**	**Peak 6**	**Peak 7**	**Peak 9**	**Peak 10**	**Peak 11**	**Peak 12**	**Peak 13**	**Other peaks**
Urine (M)	0-24 hr	32.1	21.9	ND	ND	ND	0.14	0.06	1.81	1.19	ND	0.56	0.48	ND	ND	5.95
Urine (F)	0-24 hr	25.8	22.8	ND	ND	ND	0.13	0.08	1.05	0.60	ND	0.38	ND	ND	ND	0.75
Faeces (M)	0-48 hr	62.4	51.8	ND	ND	0.11	2.36	4.25	ND	1.04	ND	ND	ND	ND	ND	6.37
Faeces (F)	0-48 hr	60.1	46.7	ND	ND	0.25	ND	4.03	ND	1.39	ND	ND	ND	ND	ND	4.30

[1] 50 mg/kg was equivalent to 41 mg/kg as free base.
F = female; M = male; ND = non-detectable; NR = not reported

2.6.5.11　　薬物動態：推定代謝経路

ラットにおいてミガーラスタットはほとんど代謝されなかったため、代謝物の構造解析及び同定は行わなかった。

2.6.5.12　　薬物動態：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.15 項を参照

2.6.5.13　薬物動態：排泄

ラットでの排泄

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No.	XBL07625			XBL07625			XBL08605			XBL08605		
Location in CTD:	4.2.2.5.1			4.2.2.5.1			4.2.2.3.2			4.2.2.3.2		
Species:	Sprague-Dawley rat			Sprague-Dawley rat			Sprague-Dawley rat			Sprague-Dawley rat		
Gender (M/F)/ Number of Animals:	1M			1F			4M			4F		
Feeding Condition:	Fasted			Fasted			Fasted			Fasted		
Vehicle/ Formulation:	Water			Water			Water			Water		
Method of Administration:	Oral gavage			Oral gavage			Oral gavage			Oral gavage		
Dose (mg/kg): [1]	1470.24			1487.89			50			50		
Analyte:	^{14}C			^{14}C			^{14}C			^{14}C		
Assay:	LSC			LSC			LSC			LSC		
	Recovery of Radioactivity (% Administered Dose)											
Excretion Route:	**Urine**	**Faeces**	**Air**	**Urine**	**Faeces**	**Air**	**Urine**	**Faeces**	**Cage**	**Urine**	**Faeces**	**Cage**
Time												
0 – 8 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	29.58	ND	ND	21.70	ND	ND
8 – 24 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.45	ND	ND	4.12	ND	ND
0 – 24 hr	23.81	50.88	0.10	17.47	67.39	0.14	ND	59.73	2.54	ND	49.49	5.22
24 – 48 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.36	2.66	0.60	2.73	10.58	1.48
48 – 72 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.10	0.12	0.55	0.33	0.53	0.72

2.6.5.13　薬物動態：排泄（続き）

ラットでの排泄（続き）

Test Article: ^{14}C-Migalastat HCl

Study No.	XBL07625			XBL07625			XBL08605			XBL08605		
	Recovery of Radioactivity (% Administered Dose)											
Excretion Route:	**Urine**	**Faeces**	**Air**	**Urine**	**Faeces**	**Air**	**Urine**	**Faeces**	**Cage**	**Urine**	**Faeces**	**Cage**
72 – 96 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.03	0.07	0.15	0.06	0.13	0.23
96 – 120 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.03	0.05	0.34	0.08	0.05	0.30
120 – 144 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.03	0.07	0.19	0.02	0.03	0.06
144 – 168 hr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.03	0.27	0.79	0.01	0.02	0.48
Total	23.81	50.88	0.10	17.47	67.39	0.14	32.61	61.77	4.36	29.04	60.82	8.49
Total % Recovered	74.79			85.00			98.74			98.35		

[1] In study No. XBL08605, 50 mg/kg was equivalent to 41 mg/kg as free base. In study No. XBL07625, 1470.24 and 1487.89 mg/kg was equivalent to 1205.12 and 1219.58 mg/kg as free base.
F = female; LSC = liquid scintillation counting; M = male; ND = not determined

2.6.5.14　　薬物動態：胆汁中排泄

該当なし。

2.6.5.15　A 薬物動態：薬物相互作用

ヒト肝細胞での CYP1A2 及び CYP3A4 に対する誘導

Test Article: Migalastat HCl

Study No. XBL07624

Location in CTD: 4.2.2.6.1

Type of Study: *In vitro* cytochrome P450 enzyme induction study in human hepatocytes (CYP1A2 and CYP3A4)

Method: Migalastat HCl (10, 100, and 1000 µmol/L) with plateable cryopreserved human hepatocytes from three individual donors was incubated for a total of five days. Hepatocyte cells were treated with regular incubation media for 2 days for plating. The plated cells were then incubated with either migalastat HCl or known inducers for 2 days. Omeprazole (50 µmol/L) and rifampin (25 µmol/L) were used as positive controls for the induction of CYP1A2 and CYP3A4 enzymes, respectively. CYP1A2 and CYP3A4 enzyme activities were evaluated by LC-MS/MS on the fifth day of incubation using phenacetin (50 µmol/L) and testosterone (50 µmol/L) as marker substrates, respectively.

Tabulated Results:

CYPs	**Donor**	**Induction (Fold) (activity with induced cells/control activity)**			
		10 µmol/L	**100 µmol/L**	**1000 µmol/L**	**Positive Control**
1A2	**1**	1.10	1.10	1.20	42.4
	2	0.89	0.89	0.89	20.0
	3	0.89	1.00	0.89	22.5
3A4	**1**	1.00	1.00	1.00	15.9
	2	0.94	0.97	0.87	33.6
	3	0.96	1.20	0.93	9.00

CYP = Cytochrome P450; LC-MS/MS = liquid chromatography – tandem mass spectrometry

2.6.5.15　B 薬物動態：薬物相互作用（続き）

ヒト肝細胞での CYP2B6 に対する誘導

Test Article: Migalastat HCl

Study No. XBL15798

Location in CTD: 4.2.2.6.5

Type of Study: *In Vitro* Evaluation of Human Cytochrome P450 2B6 Induction Potential in Human Hepatocytes

Method: Migalastat HCl (5, 50, and 500 µmol/L) with plateable cryopreserved human hepatocytes from three individual donors was incubated for a total of three days. Phenobarbital (750 µmol/L) and flumazenil (25 µmol/L) were used as the positive and negative controls for CYP2B6 induction, respectively. CYP2B6 induction was assessed by measuring the expression levels of CYP2B6 mRNA via real-time PCR. The enzymatic activities of CYP2B6 were assessed by using CYP2B6-mediated bupropion hydroxylation reaction. Concentrations of CYP2B6 metabolite formed in the marker substrate incubations were determined by LC-MS/MS.

Tabulated Results:

Donor	**Induction (Fold) of CYP2B6 mRNA Expression Levels of Human Hepatocytes with Various Treatments**				
	Migalastat HCl 5 µmol/L	Migalastat HCl 50 µmol/L	Migalastat HCl 500 µmol/L	NC[a]	PC[b]
CDP	1.30 (1.07 - 1.58)	1.11 (1.06 - 1.16)	1.01 (0.90 - 1.13)	1.07 (1.05 - 1.09)	7.34 (4.84 - 11.14)
EJW	1.51 (1.20 - 1.91)	1.40 (1.00 - 1.97)	1.42 (1.37 - 1.48)	0.95 (0.85 - 1.05)	9.17 (7.34 - 11.45)
NHI	0.93 (0.90 - 0.96)	0.94 (0.89 - 1.00)	1.16 (1.14 - 1.17)	1.10 (0.86 - 1.40)	10.03 (8.62 - 11.68)
Donor	**Induction (Fold) of CYP2B6 Activity of Human Hepatocytes with Various Treatments**				
	Migalastat HCl 5 µmol/L	Migalastat HCl 50 µmol/L	Migalastat HCl 500 µmol/L	NC[a]	PC[b]
CDP	0.95 ± 0.12	1.01 ± 0.05	0.77 ± 0.20	1.12 ± 0.16	9.69 ± 1.17
EJW	0.80 ± 0.02[c]	0.75 ± 0.13[c]	0.76 ± 0.10	0.88 ± 0.11	10.08 ± 1.71
NHI	1.08 ± 0.13	0.87 ± 0.14	1.02 ± 0.19[c]	0.91 ± 0.13	6.74 ± 1.03

[a] NC: Negative control – flumazenil (25 µmol/L) was used as the negative control treatment.
[b] PC: Positive control – phenobarbital (750 µmol/L) was used as the positive control treatment for CYP2B6.
[c] Data are mean ± standard error of the mean from duplicate measurements.
Data are mean ± standard error of the mean from triplicate measurements except data with a footnote[c].
CYP = Cytochrome P450; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = messenger ribonucleic acid; PCR = polymerase chain reaction

2.6.5.15　C 薬物動態：薬物相互作用（続き）

ヒト肝ミクロソームでの CYP に対する阻害

Test Article: Migalastat HCl

Study No. XT115084

Location in CTD: 4.2.2.6.2

Type of Study: *In Vitro* Evaluation of Migalastat as an Inhibitor of Cytochrome P450 Enzymes in Human Liver Microsomes

Method: Direct, time-dependent, and metabolism-dependent inhibition of CYP activity. Human liver microsomes from a pool of sixteen individuals were incubated with marker substrates in the presence or absence of migalastat HCl. To distinguish between time-dependent and metabolism-dependent inhibition, migalastat HCl was preincubated with human liver microsomes for 30 minutes without or with an NADPH-generating system, respectively, prior to the incubation with the marker substrate.

Tabulated Results:

Enzyme (CYP)	**Enzyme reaction**	**Direct inhibition**		**Time-dependent inhibition**		**Metabolism-dependent inhibition**		
		No preincubation		**30-minute pre-incubation without NADPH**		**30-minute pre-incubation with NADPH**		**Potential for metabolism-dependent inhibition [a]**
		IC_{50} (µmol/L) [b]	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L [c]**	**IC_{50} (µmol/L) [b]**	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L [c]**	**IC_{50} (µmol/L) [b]**	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L [c]**	
1A2	Phenacetin *O*-dealkylation	>500	2.7	>500	3.6	>500	5.5	No
2A6	Coumarin 7-hydroxylation	>500	NA	>500	NA	>500	NA	No
2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	>500	NA	>500	NA	>500	3.7	No
2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation	>500	NA	>500	NA	>500	NA	No
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	>500	9.3	>500	7.6	>500	11	No
2C19	*S*-Mephenytoin 4′-hydroxylation	>500	6.3	>500	5.4	>500	6.1	No

2.6.5.15　C 薬物動態：薬物相互作用（続き）

ヒト肝ミクロソームでの CYP に対する阻害（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. XT115084

Enzyme (CYP)	**Enzyme reaction**	**Direct inhibition**		**Time-dependent inhibition**		**Metabolism-dependent inhibition**		
		No preincubation		**30-minute pre-incubation without NADPH**		**30-minute pre-incubation with NADPH**		**Potential for metabolism-dependent inhibition** [a]
		IC_{50} (µmol/L) [b]	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L** [c]	**IC_{50} (µmol/L)** [b]	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L** [c]	**IC_{50} (µmol/L)** [b]	**Inhibition observed (%) at 500 µmol/L** [c]	
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>500	4.8	>500	16	>500	11	No
2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	>500	11	>500	14	>500	16	No
3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	>500	NA	>500	NA	>500	NA	No
3A4/5	Nifedipine oxidation	>500	NA	>500	NA	>500	NA	No
3A4/5	Atorvastatin *O*-hydroxylation	>500	4.0	>500	NA	>500	4.6	No

[a] Metabolism-dependent inhibition was determined by comparison of IC_{50} values both with and without preincubation and with or without NADPH-generating system present in the preincubation, by comparison of the observed inhibition (%) for all preincubation conditions and by visual inspection of the IC_{50} plots.

[b] Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values.

[c] Inhibition observed (%) is calculated with the following formula (results are rounded to two significant figures): Inhibition observed (%) = 100% − percent solvent control.

CYP = Cytochrome P450; IC_{50} = concentration of an inhibitor that causes a 50% decrease in enzyme activity; NA = not applicable. No value was obtained as the rates at the highest concentration of migalastat HCl evaluated (500 µmol/L) were higher than the control rates.; NADPH = β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form

2.6.5.15　D 薬物動態：薬物相互作用（続き）

トランスポーターに対する阻害

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-01-[redacted]

Location in CTD: 4.2.2.6.3

Type of Study: *In Vitro* Interaction Studies of Migalastat as an Inhibitor of Membrane Transport Proteins

Method: Interaction of migalastat HCl (0.69 – 500 µmol/L) as an inhibitor of the human ABC (efflux) transporters: BCRP (ABCG2/MXR), BSEP (ABCB11/sP-gp) and MDR1 (ABCB1/P-gp) using vesicular transport inhibition assays; and the human SLC (uptake) transporters: MATE1, MATE2-K, OATP1B1 (OATP2, OATP-C), OATP1B3 (OATP8), OAT1, OAT3, OCT1 and OCT2 using uptake inhibition assays.

Vesicular transport assays were performed with inside-out membrane vesicles prepared from cells over expressing human ABC transporters. Uptake experiments were performed using intact CHO, MDCKII, or HEK293 cells stably expressing the respective uptake transporters.

Tabulated Results:

Transporter	**BCRP**	**P-gp (MDR1)**	**BSEP**	**OATP1B1**	**OATP1B3**	**OAT1**	**OAT3**	**OCT 1**	**OCT 2**	**MATE1**	**MATE2-K**
Incubation time (min)	1	3	5	3	10	10	3	20	10	15	15
Probe substrate	E3S (1 µmol/L)	NMQ (2 µmol/L)	TC (2 µmol/L)	$E_2$17βG (1 µmol/L)	CCK-8 (0.1 µmol/L)	Tenofovir (5 µmol/L)	E3S (1 µmol/L)	Metformin (10 µmol/L)			
Probe inhibitor	Ko134 (1 µmol/L)	Verapamil (100 µmol/L)	Cyclosporin A (20 µmol/L)	Rifampicin (50 µmol/L)		Probenecid (200 µmol/L)		Verapamil (100 µmol/L)		Pyri-methamine (1 µmol/L)	Pyri-methamine (10 µmol/L)
IC_{50}	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Maximum inhibition (% of control)	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO	NIO

2.6.5.15　D 薬物動態：薬物相互作用（続き）

トランスポーターに対する阻害（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-01-[redacted]

Additional Information: The positive control experiments confirmed the function of the transporter in the applied cells.

Migalastat did not inhibit BCRP, P-gp, or BSEP human efflux transporters, or OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, or MATE2-K human uptake transporters.

ABC = ATP-Binding Cassette; BCRP = Breast cancer resistance protein; BSEP = Bile salt export pump; CHO = Chinese hamster ovary; $E_2$17βG = Estradiol-17-β-glucuronide; E3S = Estrone-3-sulfate; HEK = Human embryonic kidney; IC_{50} = inhibitory concentration at 50% efficacy; MATE = Multidrug and toxin extrusion transporter; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; MDR1 = Multidrug resistance protein 1; MXR = Mitoxantrone resistance protein; NA = not applicable; NIO = no interaction observed, defined as inhibition being less than 20%; NMQ = N-methyl quinidine; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; SLC = Solute carrier

2.6.5.15　E 薬物動態：薬物相互作用（続き）

トランスポーターの基質

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-02-[redacted]

Location in CTD: 4.2.2.6.4

Type of Study: *In Vitro* Interaction Studies of Migalastat as a Substrate of Membrane Transport Proteins

Method: Interaction of migalastat HCl (50 and 100 µmol/L at 2 or 20 minutes incubation time points) as a substrate of the human ABC (efflux) transporters: BCRP and P-gp using vesicular transport inhibition assays; and (at 10 and 100 µmol/L at 2 or 20 minutes incubation time points) for the human SLC (uptake) transporters: MATE1, MATE2-K, OAT1, OAT3, and OCT2 using uptake inhibition assays.

Vesicular transport assays were performed with inside-out membrane vesicles prepared from cells over expressing human ABC transporters. Uptake experiments were performed using intact CHO or MDCKII cells stably expressing the respective uptake transporters.

Tabulated Results:

Vesicular transport substrate assay accumulation values (ATP-dependent fold)

Concentration and Time	**BCRP**	**MDR1 (P-gp)**
Reference Inhibitor	Ko 134 (1 µmol/L)	verapamil (100 µmol/L)
50 µmol/L and 2 minutes	3.53	2.07
50 µmol/L and 20 minutes	0.78	1.20
100 µmol/L and 2 minutes	1.01	1.12
100 µmol/L and 20 minutes	1.05	1.01
50 µmol/L and 2 minutes (without inhibitor in 1% DMSO)*	0.87	0.99
50 µmol/L and 2 minutes (with inhibitor in 1% DMSO)*	1.64	0.85

2.6.5.15　E 薬物動態：薬物相互作用（続き）

トランスポーターの基質（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-02-[redacted]

Note: If the ATP-dependent accumulation value is > 2-fold in transporter containing vesicles and can be inhibited by a known inhibitor of the transporter, then the test article can be considered a substrate of the transporter investigated. In addition, similar ATP-dependent accumulation should not be observed in the control vesicles lacking the transporter of interest.

*Migalastat HCl, at 50 µmol/L and 2 min for both BCRP and P-gp, showed an ATP-dependent accumulation value above the substrate threshold of 2-fold in initial assay; however, values in a follow-up assay were below the threshold, thus not reproducible in case of both transporters, indicating that migalastat is unlikely a substrate of BCRP or P-gp.

2.6.5.15　E 薬物動態：薬物相互作用（続き）

トランスポーターの基質（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-02-[redacted]

Uptake transport substrate assay accumulation values (-fold)

Concentration and Time	MATE1	MATE2-K	OAT1	OAT3 (04Aug2015)	OAT3 (08Sep2015)	OCT2
Reference Inhibitor	Pyrimethamine (1 µmol/L)	Pyrimethamine (10 µmol/L)	Probenecid (10 µmol/L)	Probenecid (200 µmol/L)	Probenecid (200 µmol/L)	Verapamil (100 µmol/L)
10 µmol/L and 2 minutes	0.78	1.35	0.91	1.04	1.14	0.88
10 µmol/L and 20 minutes	1.19	0.89	0.92	1.96	0.92	0.57
100 µmol/L and 2 minutes	1.18	0.77	0.51	1.08	15.65	0.64
100 µmol/L and 20 minutes	0.99	1.09	0.76	4.00	4.75	0.73
100 µmol/L and 20 minutes (without inhibitor in 1% DMSO)	NA	NA	NA	NA	1.00	NA
100 µmol/L and 20 minutes (with inhibitor in 1% DMSO)	NA	NA	NA	NA	0.52	NA

Note: If the accumulation is > 2-fold and can be inhibited by a known inhibitor of the transporter, the test article can be considered to be a substrate of the respective transporter.

Additional Information:

The positive control experiments confirmed the function of the transporter in the applied cells.

Based on the data obtained under the conditions tested:

- Migalastat is unlikely a substrate of human efflux transporters BCRP and MDR1, and human uptake transporters MATE1, MATE2-K, OAT1 and OCT2.
- The result was inconclusive for migalastat effect on the OAT3 transporter: see repeat study Amicus-04-03Nov2015 in the table below.

ABC = ATP-Binding Cassette; BCRP = Breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; DMSO = dimethyl sulfoxide; MATE = Multidrug and toxin extrusion transporter; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; P-gp (MDR1) = P-glycoprotein (Multidrug resistance protein 1); NA = not applicable; OAT = Organic anion transporter; OCT = Organic cation transporter; SLC = Solute carrier

2.6.5.15　F 薬物動態：薬物相互作用（続き）

OAT3 の基質

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-04-[redacted]

Location in CTD: 4.2.2.6.6

Type of Study: *In Vitro* Interaction Studies of Migalastat with the Human OAT3 Uptake Transporter

Method: Interaction of migalastat HCl (3, 10, 30, 100, and 300 µmol/L) at 2 or 20 minutes incubation time points, as a substrate of the human uptake transporter OAT3, with each condition done in 6 parallels (n=6) for greater statistical power. Probenecid (200 µmol/L) was used as positive control.

Vesicular transport assays were performed using MDCKII cells stably expressing the OAT3 uptake transporter.

Tabulated Results:

Accumulation of migalastat in OAT3 expressing and control cells measured in the uptake transporter substrate assay

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	Concentration (µmol/L)	Incubation time (min)	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
Migalastat HCl	3	2	NA	NA	NA	**NA**
		20	11.70 ± 1.62	9.87 ± 1.15	1.84 ± 1.98	**1.19**
	10	2	12.45 ± 0.74	10.91 ± 2.11	1.54 ± 2.24	**1.14**
		20	33.47 ± 1.64	35.08 ± 2.03	-1.61 ± 2.61	**0.95**
	30	2	30.82 ± 0.44	24.70 ± 5.03	6.12 ± 5.05	**1.25**
		20	103.05 ± 15.49	102.11 ± 9.81	0.94 ± 18.34	**1.01**
	100	2	99.93 ± 13.37	92.40 ± 9.61	7.53 ± 16.47	**1.08**
		20	341 13 ± 44.30	329.77 ± 29.68	11.36 ± 53.33	**1.03**
	300	2	277.02 ± 7.69	182.33 ± 18.36	94.69 ± 19.91	**1.52**
		20	1359.24 ± 70.72	1175.79 ± 85.84	183.45 ± 111.22	**1.16**

2.6.5.15　F 薬物動態：薬物相互作用（続き）

OAT3 の基質（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. Amicus-04-[redacted]

Positive control (accumulation in cpm)

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	Concentration (µmol/L)	**Incubation time (min)**	**In transporter expressing cells**	**In control cells**	**Active transport**	**Fold accumulation**
E3S	**1**	**3**	1586.00 ± 154.94	59.33 ± 3.06	1526.67 ± 154.97	**26.73**
+ probenecid	**+ 200**	**3**	180.67 ± 14.98	48.67 ± 3.21	132.00 ± 15.32	**3.71**

Note: Data are expressed as mean (n=6) ± SD; Calibration limit: 1.53 nmol/L

Additional Information:

- No statistically significant outliers were detected; therefore all six parallels were included in the analysis
- Based on the data obtained under the conditions tested, migalastat is unlikely a substrate of human uptake transporter OAT3

E3S = Estrone-3-sulfate; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; NA = not applicable; OAT = Organic anion transporter; SD = standard deviation

2.6.5.15　G 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT1 の基質

Test Article: Migalastat HCl

Study No. 2011N125700_00

Location in CTD: 4.2.2.6.7

Type of Study: Effect of migalastat on membrane potential of Xenopus oocytes expressing SGLT1

Method: *In vitro* Xenopus laevis oocyte expression system used in an electrophysiological experiment to measure the effect of migalastat HCl (412 µmol/L to 100 mmol/L) on membrane potential.

Tabulated EC_{50} Values

	Individual Results (EC_{50}, mmol/L)		Average	SEM	No
alpha-MDG	2.17	2.00	2.09	0.085	2
Migalastat HCl	271.40	174.30	222.85	48.55	2

Tabulated % Inhibition Values

	Individual Results (% inhibition)		Average	SEM	No
alpha-MDG	100	100	100.00	0.00	2
Migalastat HCl	83.51	63.90	73.71	48.55	2

Additional Information:

Alpha-MDG and migalastat induce dose dependent membrane depolarizations in hSGLT1 expressing oocytes, both of which can be inhibited by phlorizin. The data suggests that like alpha-MDG, migalastat is an SGLT1 substrate.

alpha-MDG = alpha-methyl-D-glucopyranoside; EC_{50} = concentration yielding 50% of the maximal effect; SEM = standard error of the mean; SGLT = Sodium glucose cotransporter

2.6.5.15　H 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT1 に対する阻害

Test Article: Migalastat HCl

Study No. 2011N125739_00

Location in CTD: 4.2.2.6.8

Type of Study: Inhibition of SGLT1 by migalastat

Method: A baculovirus expression system using COS-7 cells expressing human SGLT1, to evaluate the potential (IC_{50}) for migalastat HCl (GR181413A) to inhibit human SGLT1 *in vitro*. COS-7 cells were incubated with increasing concentrations of migalastat HCl (0.15 to 150 mmol/L) and radiolabeled alpha-methyl-D-(U-^{14}C)-glucopyranoside at 37°C for 45 minutes. A positive control concentration-response curve was obtained using the SGLT1 inhibitor, GSK2340791A.

Results: In two experiments, migalastat HCl exhibited dose-dependent inhibition of glucose uptake in COS-7 cells with an estimated IC_{50} value of 64.7 +/- 2.55 mmol/L.

Additional Information:

The IC_{50} given in the results section was generated from the last two experiments; these two experiments contained more points in the measurable range of glucose inhibition so these IC_{50} estimates are more accurate. Value is expressed as average +/- standard deviation.

These data suggest that migalastat inhibits glucose uptake catalyzed by SGLT1 with low affinity.

COS-7 = African Green Monkey SV40-transfected kidney fibroblast cell line ; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration ; SGLT = Sodium glucose cotransporter

2.6.5.15　I 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT2 の基質

Test Article: Migalastat HCl

Study No. OPT-2015-091

Location in CTD: 4.2.2.6.10

Type of Study: *In Vitro* Interaction Studies of Migalastat as a Substrate of Human SGLT2-Mediated Transport

Method: Interaction of migalastat HCl [concentration range *in vitro* was 10 – 300 µmol/L, and 300 µmol/L in the presence of a reference inhibitor (1 µmol/L phloridzin) of SGLT2 and incubated for 5 min at 37°C] as a substrate of human sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) mediated transport, in a polarized monolayer of MDCK-II cells expressing the transporter of interest or treated with a control vector. The transport of migalastat was determined by LC-MS/MS.

Transport of Migalastat mediated by SGLT2. Migalastat HCl was studied at 10, 30, 100 and 300 µmol/L, as well as 300 µmol/L in the presence of reference inhibitor, 1 µmol/L phloridzin. Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

Tabulated Results:

***In vitro* assay data for SGLT2-mediated transport of migalastat**

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (transporter) (pmol/min/cm^2)	Cellular Accumulation (control) (pmol/min/cm^2)	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)	Inhibition (%)
SGLT2	1 mmol/L methyl-α-D-glucopyranoside	108 ± 4.84	11.8 ± 0.910	95.7 ± 4.84	-
	1 mmol/L methyl-α-D-glucopyranoside + 1 µmol/L phloridzin	21.0 ± 4.53	12.3 ± 0.00	8.70 ± 4.53	90.9 ± 4.73
	10 µmol/L Migalastat HCl	0.0385 ± 0.0129	0.0473 ± 0.0195	-0.0088 ± 0.0129	-
	30 µmol/L Migalastat HCl	0.0958 ± 0.0199	0.193 ± 0.0637	-0.098 ± 0.0199	-
	100 µmol/L Migalastat HCl	0.290 ± 0.0571	0.851 ± 0.236	-0.560 ± 0.0571	-
	300 µmol/L Migalastat HCl	1.14 ± 0.222	2.44 ± 1.15	-1.30 ± 0.222	-
	300 µmol/L Migalastat HCl + 1 µmol/L phloridzin	2.19 ± 0.257	2.46 ± 0.441	-0.274 ± 0.257	NC

2.6.5.15　I 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT2 の基質（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. OPT-2015-091

All results were presented as Mean ± SD.

NC: not calculated due to lack of inhibition.

Additional Information: The positive control for the transport assays and corresponding inhibition satisfied the control criteria.

SGLT2-expressing cells transported less migalastat HCl than the corresponding control, although the difference was statistically significant only at 100 µmol/L. Results suggest that migalastat is not a SGLT2 substrate.

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; SD = standard deviation; SGLT = Sodium glucose cotransporter

2.6.5.15　J 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT2 に対する阻害

Test Article: Migalastat HCl

Study No. OPT-2015-090

Location in CTD: 4.2.2.6.9

Type of Study: *In Vitro* Interaction Studies of Migalastat as an Inhibitor of Human SGLT2- Mediated Transport

Method: Interaction of migalastat HCl (concentration range *in vitro* was 3 – 1000 µmol/L and incubated for 5 min at 37°C) as an inhibitor of human sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) mediated transport in a polarized monolayer of MDCK-II cells expressing the transporter of interest or treated with a control vector. The transport of probe substrate (^{14}C-methyl-α-D-glucopyranoside) was determined by radiometric detection.

Tabulated Results:

***In vitro* assay data for the assessment of inhibition of SGLT2-mediated transport of methyl-α-D-glucopyranoside (1000 µmol/L) by migalastat.**

Run #1

Transporter	Migalastat HCl concentration (µmol/L)	Cellular Accumulation (transporter) (pmol/min/cm^2)	Cellular Accumulation (control) (pmol/min/cm^2)	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)	Inhibition (%)
SGLT2	0	108 ± 4.84	11.8 ± 0.91	95.7 ± 4.84	-
	3	104 ± 8.63	12.3 ± 1.42	91.6 ± 8.63	4.32 ± 9.02
	10	106 ± 19.7	12.2 ± 1.61	93.6 ± 19.7	2.23 ± 20.6
	30	117 ± 11.2	200 ± 270	-83.3 ± 11.2	187 ± 11.6
	100	155 ± 53.4	27.6 ± 0.00	127 ± 53.4	-32.6 ± 55.8
	300	125 ± 6.88	16.7 ± 4.87	108 ± 6.88	-12.7 ± 7.18
	1000	124 ± 3.49	17.0 ± 2.50	107 ± 3.49	-11.7 ± 3.65
	1 µmol/L phloridzin	28.4 ± 5.09	11.4 ± 2.80	17.1 ± 5.09	82.2 ± 5.31

2.6.5.15　J 薬物動態：薬物相互作用（続き）

SGLT2 に対する阻害（続き）

Test Article: Migalastat HCl

Study No. OPT-2015-090

Run #2

Transporter	Migalastat HCl concentration (µmol/L)	Cellular Accumulation (transporter) (pmol/min/cm^2)	Cellular Accumulation (control) (pmol/min/cm^2)	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)	Inhibition (%)
SGLT2	0	121 ± 22.7	10.8 ± 1.07	111 ± 22.7	-
	3	105 ± 12.5	12.2 ± 0.403	92.4 ± 12.5	16.4 ± 11.3
	10	108 ± 10.7	15.4 ± 0.00	92.1 ± 10.7	16.7 ± 9.66
	30	100 ± 13.1	8.18 ± 1.25	91.9 ± 13.1	16.9 ± 11.8
	100	96.0 ± 2.88	20.9 ± 9.09	75.0 ± 2.88	32.2 ± 2.60
	300	106 ± 6.19	27.0 ± 0.00	78.8 ± 6.19	28.7 ± 5.59
	1000	124 ± 6.62	14.0 ± 2.50	110 ± 6.62	0.698 ± 5.99
	1 µmol/L phloridzin	11.1 ± 5.49	10.9 ± 0.494	0.196 ± 5.49	99.8 ± 4.96

All results were presented as Mean ± SD.

Additional Information: In both experiments, the probe substrate ^{14}C-methyl-α-D-glucopyranoside showed sufficient transport and the reference inhibitor phloridzin showed sufficient inhibition to satisfy the control criteria.

SGLT2-mediated transport of the substrate methyl-α-D-glucopyranoside was insufficiently inhibited at any of the concentrations of migalastat HCl studied (concentration range *in vitro* was 3 – 1000 µmol/L) and an IC_{50} value could not be determined. The reference inhibitor phloridzin showed sufficient inhibition to satisfy the control criteria.

IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; MDCKII = Madin-Darby canine kidney; SD = standard deviation; SGLT = Sodium glucose cotransporter

2.6.5.16　　薬物動態：その他

該当なし。