KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4　薬物動態試験の概要文

協和キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
ABT	1-aminobenzotriazole（1-アミノベンゾトリアゾール）
BCRP	Breast cancer resistance protein（乳癌耐性タンパク質）
CITCO	6-(4-chlorophenyl)imidazo [2,1-b][1,3]thiazole-5-carbaldehyde-O-(3,4-dichlorobenzyl)oxime（6-(4-クロロフェニル)イミダゾ[2,1-b] [1,3]チアゾール-5-カルボアルデヒド O-(3,4-ジクロロベンジル)オキシム）
CL_{int}	Intrinsic clearance（固有クリアランス）
CYP	Cytochrome P450（チトクローム P450）
DMSO	Dimethyl sulfoxide（ジメチルスルホキシド）
E_{max}	Maximal calculated induction （誘導の最大値）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
FMO	Flavin-containing monooxygenase（フラビン含有モノオキシゲナーゼ）
HEK293	Human embryonic kidney 293 cells（ヒト胎児由来腎臓 293 細胞）
IC_{50}	50% inhibit concentration（50%阻害濃度）
LSC	Liquid scintillation counter（液体シンチ　ーションカウンター）
MATE	Multidrug and toxic compound extrusion（多剤毒素排出）
MDCK	Madin-Darby canine kidney cells（イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株）
MDR1	Multidrug resistance protein 1（P-糖タンパク質）
NADPH	Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸）
NHE3	Na^+/H^+ exchanger isoform 3（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体 3）
OAT	Organic anion transporter（有機アニオン輸送体）
OATP	Organic anion transporting polypeptide（有機アニオン輸送ポリペプチド）
OCT	Organic cation transporter（有機カチオン輸送体）
P_{app}	Apparent permeability（見かけの膜透過係数）
PEPT1	Peptide transporter 1（ペプチドトランスポーター1）
P-gp	P-glycoprotein（P-糖タンパク質）
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography（定量的全身オートラジオグラフィー）
R_b	Blood to plasma partition ratio（血液−血漿分配比）

用語の定義

用語	定義
AP-to-BL	頂端膜側から基底膜側方向
AUC	血漿中薬物濃度−時間曲線下面積
AUC_{0-24}	投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度−時間曲線下面積
AUC_{0-t}	投与後 t 時間までの血漿中薬物濃度−時間曲線下面積
BL-to-AP	基底膜側から頂端膜側方向
Caco-2	ヒト結腸癌由来細胞株
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
HepaRG	ヒト肝腫瘍由来細胞株
KHK7791	テナパノル塩酸塩、開発番号
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タ　デム質量分析
M1	KHK7791 代謝物
mRNA	メッセ　ジャーリボ核酸
$t_{1/2}$	血漿中消失半減期
t_{max}	最高血漿中薬物濃度到達時間

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.6.4 薬物動態試験の概要文 9
1 まとめ 9
1.1 分析法 9
1.2 吸収 9
1.3 分布 9
1.4 代謝 10
1.5 排泄 10
1.6 薬物動態学的薬物相互作用 11
2 分析法 11
2.1 標識化合物 11
2.2 非標識化合物 12
2.2.1 定量法 12
2.2.2 生体試料中の安定性 12
3 吸収 12
3.1 In vitro 細胞膜透過性（RDX5791-PK-09.00）参考資料 4.2.2.2-1 12
3.2 マウス 13
3.2.1 M1 の単回投与試験（RDX5791-M1-02）参考資料 4.2.2.2-2 13
3.2.2 テナパノル塩酸塩の 28 日間反復投与試験（RDX5791-TX-09）評価資料 4.2.3.2-2 14
3.3 ラット 14
3.3.1 テナパノル塩酸塩の単回投与試験（30 mg/kg）（RDX5791-PK-03）参考資料 4.2.2.2-3 14
3.3.2 テナパノル塩酸塩の単回投与試験（1 及び 10 mg/kg）（RDX5791-PK-04）参考資料 4.2.2.2-4 15
3.3.3 ^{14}C-テナパノル塩酸塩の単回投与試験（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5 15
3.3.4 テナパノル塩酸塩及び M1 の 4 日間反復投与試験（RDX5791-M1-05）参考資料 4.2.2.2-6 16
3.3.5 テナパノル塩酸塩の 16 日間反復投与試験（RDX5791-TX-5）評価資料 4.2.3.2-6 17
3.4 イヌ 17
3.4.1 単回投与（RDX5791-PK-05）参考資料 4.2.2.2-7 17
3.4.2 単回投与（RDX5791-PK-13）評価資料 4.2.2.2-8 18
3.4.3 9 ヵ月間反復投与（322009）評価資料 4.2.2.2-9 20
4 分布 20
4.1 ラットにおける組織中濃度（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5 20
4.2 血漿蛋白結合及び R_b（RDX5791-PK-07, Rev. 2）参考資料 4.2.2.3-1、（ADME-[redacted]-0110）評価資料 4.2.2.3-2、（ADME-[redacted]-0318）評価資料 4.2.2.3-3、（ADME-[redacted]-0331）参考資料 4.2.2.3-4、（ADME-[redacted]-0704-BP）評価資料 4.2.2.3-5 27

4.2.1 テナパノル 27
4.2.2 M1 27
4.3 ラットにおけるテナパノルの消化管内動態（RDX5791-PK-08.00）参考資料 4.2.2.3-6 27

5 代謝 28
5.1 人工胃腸液中におけるテナパノルの安定性（RDX5791-PK-01）参考資料 4.2.2.4-1 28
5.2 In vitro 代謝（RDX5791-PK-06）参考資料 4.2.2.4-2 29
5.3 In vivo 代謝（[redacted]381-38）評価資料 5.3.3.1-3、（[redacted]381-39）評価資料 4.2.2.4-3 29
5.4 代謝酵素の同定 30
5.4.1 CYP（ADME-[redacted]-[redacted](CYP Isoform ID)-[redacted]0527）評価資料 4.2.2.4-4 30
5.4.2 FMO（RDX5791-PK-15）参考資料 4.2.2.4-5 31
5.5 ヒト肝及び小腸ミクロソームにおけるテナパノルの代謝安定性（RDX5791-PK-14）参考資料 4.2.2.4-6 32
5.6 アロクロール-1254 誘導ラット肝 S9 画分におけるテナパノルの代謝物の評価（[redacted]381-43）参考資料 4.2.2.4-7 32
5.7 マウス、ラット及びヒト肝ミクロソームにおける M1 の代謝安定性（RDX5791-M1-08）参考資料 4.2.2.4-8 32
5.8 酵素誘導及び阻害 32
5.8.1 テナパノル 32
5.8.1.1 CYP 誘導作用（00017/0022/0024/0025CYP_IND_HepaRG_AZ13667691）参考資料 4.2.2.4-9 32
5.8.1.2 CYP 可逆的阻害作用（00008CYP_INH_LCMS_2_AZ13667691）評価資料 4.2.2.4-10、（ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0110）評価資料 4.2.2.4-11 33
5.8.1.3 CYP 時間依存的阻害作用（ADME-[redacted]-[redacted]1206-CYP TDI）評価資料 4.2.2.4-12 34
5.8.2 M1 35
5.8.2.1 CYP 誘導作用（ADME-[redacted]-[redacted]0704-CYP Induction）評価資料 4.2.2.4-13 35
5.8.2.2 CYP 可逆的阻害作用（ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0323）評価資料 4.2.2.4-14、（ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0417）評価資料 4.2.2.4-15 35
5.8.2.3 CYP 時間依存的阻害作用（ADME-[redacted]-[redacted]1207-CYP TDI）評価資料 4.2.2.4-16 36

6 排泄 37
6.1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を単回経口投与したときの糞中排泄（RDX5791-PK-02）参考資料 4.2.2.5-1 37
6.2 雄性ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5 37

7 薬物動態学的薬物相互作用 38
7.1 薬物トランスポーターによる輸送 38
7.1.1 テナパノル 38
7.1.1.1 BCRP による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-BCRP Substrate）評価資料 4.2.2.6-1 38
7.1.1.2 P-gp による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-P-gp Substrate）評価資料 4.2.2.6-2 39
7.1.1.3 OATP1B1 及び OATP1B3 による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Substrate）評価資料 4.2.2.6-3 39

7.1.2 M1 40
7.1.2.1 BCRP による輸送（ADME-[redacted]0824-BCRP Substrate）評価資料 4.2.2.6-4 40
7.1.2.2 P-gp による輸送（ADME-[redacted]0824-P-gp Substrate）評価資料 4.2.2.6-5 40
7.1.2.3 OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K による輸送（ADME-[redacted]0824-SLC Substrate）評価資料 4.2.2.6-6 40
7.2 薬物トランスポーターに対する阻害 41
7.2.1 テナパノル 41
7.2.1.1 BCRP に対する阻害作用（[redacted]TRUKP1）評価資料 4.2.2.6-7 41
7.2.1.2 P-gp に対する阻害作用（Pgp inhib_[redacted]_AZ13667691）評価資料 4.2.2.6-8 42
7.2.1.3 OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用（ADME-[redacted]0825-SLC Inhibition）評価資料 4.2.2.6-9 42
7.2.1.4 OATP2B1 及び PEPT1 に対する阻害作用（RDX5791-PK-22）評価資料 4.2.2.6-10 42
7.2.2 M1 43
7.2.2.1 BCRP に対する阻害作用（ADME-[redacted]0413）評価資料 4.2.2.6-11 43
7.2.2.2 P-gp に対する阻害作用（ADME-[redacted]0412）評価資料 4.2.2.6-12 43
7.2.2.3 OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用（[redacted]TRUKP1S4）評価資料 4.2.2.6-13、（ADME-[redacted]0415）評価資料 4.2.2.6-14 44
7.3 その他の薬物相互作用試験 45
7.3.1 テナパノルとリン吸着薬との相互作用（in vitro）（RDX5791-PK-011.00）参考資料 4.2.2.6-15、（d-[redacted]-0161）評価資料 4.2.2.6-16 45
8 その他の薬物動態試験 45
8.1 ラットにおけるエナラプリルの薬物動態に対するテナパノルの影響（RDX5791-PK-012.00）参考資料 4.2.2.7-1 45
9 考察及び結論 45

表

Table 2.2.1-1 テナパノル及び M1 のバリデーション試験の概要 12
Table 3.1-1 MDCK 細胞単層膜における細胞膜透過性 13
Table 3.2.1-1 雄性マウスに M1 を 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの薬物動態パラメータ 14
Table 3.2.2-1 雌雄マウスにテナパノル塩酸塩を反復経口投与したときの薬物動態パラメータ 14
Table 3.3.1-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル塩酸塩濃度 15
Table 3.3.2-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算） 15
Table 3.3.4-1 雌雄ラットにテナパノル塩酸塩を 5 及び 10 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ 16
Table 3.3.4-2 雌雄ラットに M1 を 5 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ 17
Table 3.3.5-1 雌雄ラットにテナパノル塩酸塩を 16 日間反復経口投与したときの薬物動態パラメータ 17
Table 3.4.1-1 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算） 18
Table 3.4.2-1 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときのテナパノル及び M1 の薬物動態パラメータ 20
Table 3.4.3-1 雌雄イヌにテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 9 ヵ月間反復経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ 20
Table 4.1-1 雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩（1 mg/kg）単回経口投与後の放射能濃度（定量可能であった組織のみ） 21
Table 5.2-1 ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおけるテナパノルの代謝物 29
Table 5.3-1 ヒト及び動物のプール血漿中テナパノル、M1 及び M2 濃度 30
Table 5.4.1-1 ヒト CYP 分子種の CL_{int} 及び寄与率 31
Table 5.4.2-1 ヒト肝ミクロソームにおけるテナパノル及びニフェジピンの CL_{int} 32
Table 5.8.1.1-1 HepaRG 細胞におけるテナパノルの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用 33
Table 5.8.1.2-1 CYP 分子種に対するテナパノルの可逆的阻害作用 34
Table 5.8.1.3-1 CYP 分子種に対するテナパノルの時間依存的阻害作用 34
Table 5.8.2.1-1 ヒト凍結肝細胞における M1 の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用 35
Table 5.8.2.2-1 CYP 分子種に対する M1 の可逆的阻害作用 36
Table 5.8.2.3-1 CYP 分子種に対する M1 の時間依存的阻害作用 36
Table 7.1.1.1-1 Caco-2 細胞単層膜におけるテナパノルの膜透過性 38

Table 7.1.1.2-1 MDCKII 及び MDCKII-MDR1 細胞単層膜におけるテナパノルの膜透過性 39
Table 7.1.1.3-1 OATP1B1 又は OATP1B3 発現 HEK293 細胞及び HEK293 細胞におけるテナパノルの細胞内取込み速度 39
Table 7.1.2.1-1 Caco-2 細胞単層膜における M1 の膜透過性 40
Table 7.1.2.2-1 MDCKII 及び MDCKII-MDR1 細胞単層膜における M1 の膜透過性 40
Table 7.1.2.3-1 OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K 発現 HEK293 細胞及び HEK293 細胞における M1 の細胞内取込み速度 41
Table 7.2.1.1-1 BCRP に対するテナパノルの阻害作用 41
Table 7.2.1.2-1 P-gp に対するテナパノルの阻害作用 42
Table 7.2.1.3-1 OATP1B1 及び OATP1B3 に対するテナパノルの阻害作用 42
Table 7.2.1.4-1 OATP2B1 及び PEPT1 に対するテナパノルの阻害作用 43
Table 7.2.2.1-1 BCRP に対する M1 の阻害作用 43
Table 7.2.2.2-1 P-gp に対する M1 の阻害作用 44
Table 7.2.2.3-1 OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する M1 の阻害作用 44

図

Figure 2.1-1 ^{14}C-テナパノルの化学構造 11
Figure 3.2.1-1 雄性マウスに M1 を 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中 M1 濃度推移 13
Figure 3.3.3-1 雄性ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能濃度推移 16
Figure 3.4.2-1 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度推移 19
Figure 3.4.2-2 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中 M1 濃度推移 19
Figure 4.1-1 雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 4 時間） 22
Figure 4.1-2 雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 48 時間） 23
Figure 4.1-3 雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 168 時間） 24
Figure 4.1-4 雄性アルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 4 時間） 25
Figure 4.1-5 雄性アルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 48 時間） 26
Figure 4.3-1 ラットにテナパノル塩酸塩を 0.5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの各消化管内部位における遠心上清中テナパノル濃度 28
Figure 5.3-1 ヒトにおけるテナパノルの推定代謝経路 30
Figure 6.2-1 無処置ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿及び糞中への放射能の累積排泄率 37
Figure 6.2-2 胆管カニュ　ーションラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中への放射能の累積排泄率 38

2.6.4 薬物動態試験の概要文

1 まとめ

テナパノルの薬物動態試験は、非臨床薬理試験及び毒性試験に使用した動物種であるマウス、ラット及びイヌを用いて実施した。非臨床薬物動態試験における投与経路は、臨床投与経路である経口投与とした。また、分布、代謝及び薬物動態学的薬物相互作用に関する各種 in vitro 試験は、マウス、ラット、イヌ及びヒト由来試料又はヒト薬物代謝酵素発現系を用いて実施した。被験物質として、テナパノル、テナパノル塩酸塩、主要代謝物である M1、又は ^{14}C で標識したテナパノル塩酸塩若しくは KHK7791（開発番号、一般名：テナパノル塩酸塩）（以下、^{14}C-テナパノル塩酸塩又は ^{14}C-KHK7791）を用いた。

1.1 分析法

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中のテナパノル濃度は LC/MS/MS 法により定量した。^{14}C-テナパノル塩酸塩を用いた試験においては、LSC 又は QWBA 法により試料中の放射能を測定した。

1.2 吸収

テナパノル塩酸塩又は M1 をマウス、ラット及びイヌに単回又は反復経口投与したときの血漿中曝露を評価した。テナパノル塩酸塩をラット又はイヌに 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、ほとんどの時点において血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）は定量下限（0.500 ng/mL）未満であった。M1 を雄性マウス及び雌雄ラットに、それぞれ単回経口投与（100 及び 300 mg/kg）及び反復経口投与（5 及び 30 mg/kg）したとき、M1 は速やかに吸収され、曝露量は用量の増加に伴って上昇した。雌雄のマウス及びラットを用いたテナパノル塩酸塩の 28 日間反復投与試験において、それぞれ 10～200 mg/kg 及び 30～1000 mg/kg の用量で反復経口投与したとき、テナパノルの曝露量は用量の増加に伴って上昇する傾向にあった。また、反復経口投与後のテナパノルの曝露量はマウス及びラットにおいて、雄に比べて雌の方が高く、両性において初回投与時に比べて反復投与後の方が高い傾向にあった。テナパノル塩酸塩を雌雄イヌに 1000 mg/kg の用量で反復経口投与したとき、4 及び 38 週目の M1 の曝露量は同程度であり、雌雄間の曝露量に明らかな差は認められなかった。

1.3 分布

有色ラット及びアルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg（90.7～94.2 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を評価した。両系統ともに、消化管の内容物で高い放射能が検出され、ほとんどの組織で放射能は定量下限未満であり、放射能の組織分布は限定的であった。両系統で共通して放射能が検出された組織等としては、消化管の内容物の他に胃腸管組織（食道、胃、小腸、盲腸及び大腸）、肝臓、腎臓、肺、脾臓及び尿であった。また、有色ラットでは、上記の組織等の他にブドウ膜及び副腎でも放射能が検出された。有色ラット及びアルビノラットにおいて、それぞれ投与後 168 及び 48 時間までにすべての組織で放射能は定量下限未満となった。有色ラット及びアルビノラットの間で、^{14}C-テナパノル塩酸塩由来の放射能は類似した組織分布を示した。

テナパノルの in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、100 μmol/L の濃度において、マウスでは 0.00100%未満、ラットでは 0.00701%、ウサギでは 0.00748%、イヌでは 0.00313%、ヒトでは 0.00300%であり、いずれの種においても血漿中蛋白への結合が高かった。また、M1 の in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、0.01～10 μmol/L の濃度範囲において、マウスでは 2.42%～4.52%、ラットでは 1.96%～2.91%、ウサギでは 4.46%～5.03%、イヌでは 4.93%～5.58%、ヒトでは 3.20%～3.43%であり、いずれの種においても濃度依存性は観察されなかった。M1 のヒト R_b は 0.03～3 μmol/L の濃度範囲において 5.13～5.87 であり、明らかな濃度依存性は認められなかった。

1.4 代謝

ラット、イヌ及びヒト由来の肝ミクロソームを用いた in vitro 代謝試験を実施した。テナパノルはいずれの種の肝ミクロソームにおいても代謝され、ヒトで認められた代謝物はラット及びイヌ肝ミクロソームの両方、又はラット肝ミクロソームで観察された。健康成人に ^{14}C-KHK7791 を 15.2 mg（11.1 MBq）の用量で経口投与したとき、血漿、尿又は糞をプールした試料において 9 種類の代謝物が検出された。血漿には 5 種類の代謝物（M1、M2、M11、M12 及び M15）が検出され、M1 は血漿中総放射能の 16%を占めたが、その他の代謝物はいずれも 10%未満だった。生成した代謝物はいずれも酸化的 N-又は O-脱アルキル化体と考えられた。また、リコンビナント CYP を用いた in vitro 評価により、テナパノルの主代謝酵素は CYP3A（CYP3A4 及び CYP3A5）であると考えられた。M1 の生成には CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A が関与し、CYP3A における M1 の生成速度が最も高かった。テナパノルはヒト肝ミクロソームと同様に、ヒト小腸ミクロソームでも代謝された。

HepaRG 細胞を用いて、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対するテナパノルの誘導作用を評価した。テナパノルは、0.0001～20 μmol/L の濃度範囲において、いずれの CYP 分子種に対しても誘導作用を示さなかった。ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、テナパノルは CYP1A2 に対して可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 15.4、10.4、14.2、>30、3.26 及び 0.402～0.68 μmol/L であった。また、いずれの CYP 分子種に対しても時間依存的阻害作用を示さなかった。

ヒト凍結肝細胞を用いて、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する M1 の誘導作用を評価した。M1 は、0.03～10 μmol/L の濃度範囲において、CYP1A2 に対する誘導作用を示さなかったが、CYP2B6 については 3 ロット中 1 ロットにおいて、CYP3A4 については 3 ロット中 2 ロットにおいて誘導作用を示した。ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、M1 は 30 μmol/L の濃度まで CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 に対して可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ>30、>30、1.95 及び 0.0813～0.110 μmol/L であった。また、評価したすべての CYP 分子種に対して M1 は時間依存的阻害作用を示さなかった。

1.5 排泄

無処置ラット及び胆管カニュレーションラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg（それぞれ 27.6 及び 27.8 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄を評価した。無処置ラットでは、投与後 24 時間までに投与した放射能の大部分が未変化体として糞中に排

泄され、投与後 168 時間までの糞中累積排泄率は投与量の 122%であった。胆管カニュ ーションの有無によらず主な排泄経路は糞中であり、尿及び胆汁中への排泄はわずかであった。

1.6 薬物動態学的薬物相互作用

テナパノル及び M1 について、薬物トランスポーターによる輸送及び薬物トランスポーターの代表的基質の輸送に対する阻害作用を、薬物トランスポーター発現細胞を用いて評価した。

テナパノルは P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。M1 は BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではなかったが、P-gp の弱い基質と考えられた。

テナパノルは P-gp 及び BCRP に対してはそれぞれ 100 及び 300 μmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかったが、OATP1B1 及び OATP1B3 に対しては濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 0.658 及び 1.43 μmol/L であった。また、テナパノルは PEPT1 に対しては 5 μmol/L の濃度まで明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかったが、OATP2B1 に対しては濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} は 0.01 μmol/L であった。M1 は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、MATE1 及び MATE2-K を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 80.7、43.7、23.6、46.7、>100、16.9 及び 21.9 μmol/L であった。M1 は OAT3 及び OCT2 に対しては、0.3～100 μmol/L の濃度範囲において明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかった。

人工胃腸液中におけるテナパノルと本邦で承認されているリン吸着薬の相互作用を評価した。炭酸セベラマー、クエン酸第二鉄水和物、セベラマー塩酸塩、スクロオキシ水酸化鉄、ビキサロマー及び炭酸ランタン水和物へのテナパノルの結合率はそれぞれ 37.9%、42.3%、50.3%、8.61%、4.46%及び 4.16%であった。

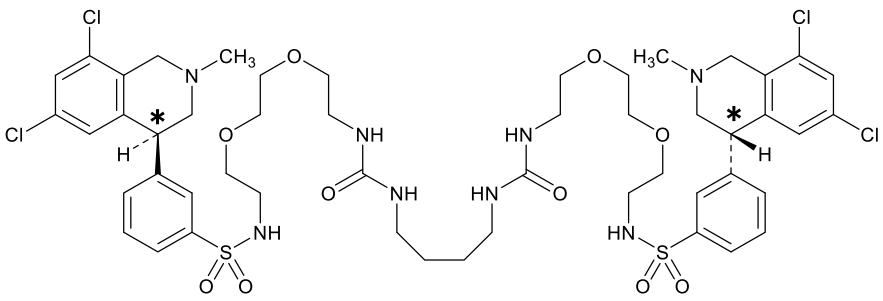
正常ラット又は腎不全ラットにエナラプリル（10 mg/kg）とテナパノル塩酸塩（1 mg/kg）を同時に併用投与したときのエナラプリルの活性代謝物エナラプリラトの AUC_{0-t} は、エナラプリル（10 mg/kg）を単独経口投与したときのエナラプリラトの AUC_{0-t} と比較して約 50%減少した。

2 分析法

2.1 標識化合物

^{14}C-テナパノルの ^{14}C 標識位置を Figure 2.1-1 に示す。ラットにおける吸収、組織分布並びに胆汁、尿及び糞中排泄試験に用いた ^{14}C-テナパノル塩酸塩の放射化学的純度は 98.6%であった。組織中の放射能は LSC を用いて測定し、組織分布は QWBA 法により評価した。放射能濃度は比放射能をもとに ^{14}C-テナパノル濃度（ng eq./g）に換算した。

Figure 2.1-1 ^{14}C-テナパノルの化学構造



*^{14}C 標識位置

2.2 非標識化合物

2.2.1 定量法

マウス、ラット、ウサギ及びイヌの測定試料に除蛋白処理及び酸性水溶液で逆抽出処理を実施した後に、テナパノル濃度を LC/MS/MS 法により定量した。マウス及びラット測定試料に固相抽出処理を実施した後に、テナパノル及び M1 濃度を LC/MS/MS 法により定量した。マウス、ウサギ及びイヌ血漿試料に除蛋白処理を実施した後に、M1 濃度を LC/MS/MS 法により定量した。バリデーション試験の一覧を Table 2.2.1-1 に示す。

Table 2.2.1-1 テナパノル及び M1 のバリデーション試験の概要

血漿	測定対象	定量範囲	資料番号
マウス	テナパノル	0.500～500 ng/mL	4.2.2.1-1、4.2.2.1-2、4.2.2.1-3
	テナパノル及び M1	0.500～250 ng/mL	4.2.2.1-4
	M1	1.00～500 ng/mL	4.2.2.1-5
ラット	テナパノル	0.500～500 ng/mL	4.2.2.1-6、4.2.2.1-7
	テナパノル及び M1	0.500～250 ng/mL	4.2.2.1-8
ウサギ	テナパノル	0.500～500 ng/mL	4.2.2.1-9、4.2.2.1-10
	テナパノル及び M1	0.500～100 ng/mL	4.2.2.1-11
イヌ	テナパノル	0.500～500 ng/mL	4.2.2.1-12、4.2.2.1-13、4.2.2.1-14
	M1	0.500～100 ng/mL	4.2.2.1-15

2.2.2 生体試料中の安定性

テナパノルは各動物血漿中で 65 日間（マウス、−70°C 保存、4.2.2.1-16）、160 日間（ラット、−70°C 保存、4.2.2.1-17）、34 日間（ウサギ、−70°C 保存、4.2.2.1-10）及び 161 日間（イヌ、−70°C 保存、4.2.2.1-18）まで安定であった。

M1 は各動物血漿中で 76 日間（マウス、−70°C 保存、4.2.2.1-4）、116 日間（ラット、−70°C 保存、4.2.2.1-8）、28 日間（ウサギ、−80°C 保存、4.2.2.1-11）及び 24 ヵ月（イヌ、−80°C 保存、4.2.2.1-19）まで安定であった。

3 吸収

3.1 In vitro 細胞膜透過性（RDX5791-PK-09.00）参考資料 4.2.2.2-1

MDCK 細胞単層膜を用いて、基底膜側の pH を 7.4、頂端膜側の pH を 6.5 又は 7.4 としたときの、AP-to-BL 及び BL-to-AP のテナパノルの細胞膜透過性を評価した。低、中程度、高膜透過性の対照物質としてそれぞれアテノロール及びコルヒチン、ラベタロール、プロプラノロールを用いた。P_{app} 及び回収率を Table 3.1-1 に示す。

低膜透過性の対照物質であるアテノロール及びコルヒチンに比べて、テナパノルの P_{app} は低値を示した。

Table 3.1-1　MDCK 細胞単層膜における細胞膜透過性

被験物質	頂端膜側 pH	AP-to-BL		BL-to-AP	
		P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	回収率 (%)	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	回収率 (%)
テナパノル	7.4	<0.01 ± <0.01	86 ± 10	<0.01 ± <0.01	64 ± 5
	6.5	<0.01 ± <0.01	83 ± 1	0.02 ± 0.03	59 ± 2
アテノロール [a]	7.4	0.5 ± 0.1	102 ± 2	1 ± 0.1	107 ± 4
	6.5	0.5 ± 0.04	102 ± 10	2 ± 0.5	107 ± 9
プロプラノロール [a]	7.4	28 ± 1	95 ± 6	18 ± 3	95 ± 6
	6.5	7 ± 0.1	99 ± 1	26 ± 0.4	104 ± 1
ラベタロール [a]	7.4	6 ± 0.3	96 ± 0.6	14 ± 2	104 ± 0.5
	6.5	1 ± 0.1	99 ± 2	14 ± 0.1	104 ± 0.3
コルヒチン [a]	7.4	0.3 ± 0.1	101 ± 3.7	3 ± 0.2	104 ± 2
	6.5	0.3 ± 0.04	100 ± 1	3 ± 0.2	104 ± 2

<: 定量下限未満を示す。
データは平均値±標準偏差で示した。
a: 対照物質

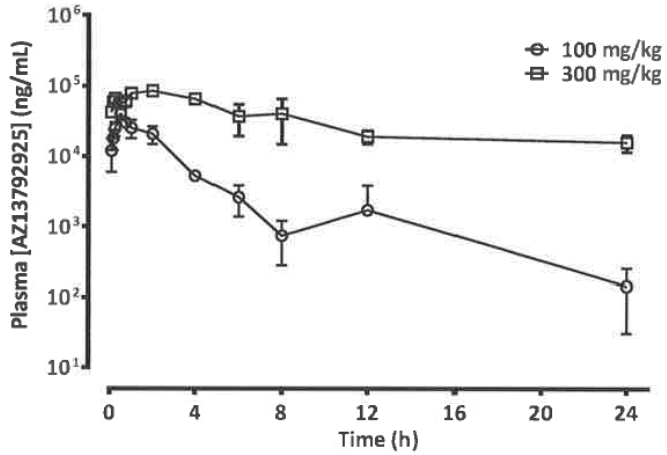
3.2　マウス

3.2.1　M1 の単回投与試験（RDX5791-M1-02）参考資料 4.2.2.2-2

雄性マウス（C57BL/6 系）に M1 を 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中 M1 濃度を測定した。血漿中濃度推移を Figure 3.2.1-1 に、薬物動態パラメータを Table 3.2.1-1 に示す。

M1 は速やかに吸収され、100 及び 300 mg/kg における C_{max} はそれぞれ 41063 及び 85419 ng/mL、AUC_{0-24} はそれぞれ 104819 及び 801778 ng· h/mL であった。100 及び 300 mg/kg において明確な消失相が認められなかったため、$t_{1/2}$ は算出不能であった。

Figure 3.2.1-1　雄性マウスに M1 を 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中 M1 濃度推移



平均値±標準偏差、3 例（時点ごと）で示した。
AZ13792925=M1

Table 3.2.1-1 雄性マウスに M1 を 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	100	300
t_{max} (h)	0.500	2.00
C_{max} (ng/mL)	41063	85419
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	104819	801778
$t_{1/2}$ (h)	NC	NC

各群 3 個体の平均血漿中濃度から薬物動態パラメータを算出した。
NC=Not calculated、明確な消失相が認められなかったため算出不能であった。

3.2.2 テナパノル塩酸塩の 28 日間反復投与試験（RDX5791-TX-09）評価資料 4.2.3.2-2

雌雄マウス（CD-1 系）にテナパノル塩酸塩を 10、50 及び 200 mg/kg の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与したときの血漿中テナパノル濃度を測定した（テナパノル塩酸塩濃度として算出）。投与初日（0 日目）及び 27 日目の薬物動態パラメータを Table 3.2.2-1 に示す。

テナパノルの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）はおおむね用量の増加に伴って上昇したが、雄については、0 日目の C_{max} は 50 mg/kg の方が 200 mg/kg に比べて高く、27 日目では 10 mg/kg と 50 mg/kg で同程度であった。雌については、27 日目の C_{max} は 50 mg/kg と 200 mg/kg で同程度であった。両性及びすべての投与量群について、27 日目の曝露量は 0 日目に比べて高い傾向を示し、曝露量の蓄積は雌の方が雄に比べて顕著であった。0 日目の曝露量は雄の方が雌に比べて高く、27 日目では雌の方が雄に比べて高かった。

Table 3.2.2-1 雌雄マウスにテナパノル塩酸塩を反復経口投与したときの薬物動態パラメータ

Day	性別	雄			雌		
	投与量 (mg/kg)	10[a]	50	200	10[a]	50	200
0	C_{max} (ng/mL)	1.26	18.3	12.0	1.10	1.54	7.85
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	10.8	36.6	61.3	0.700	3.45	14.9
27	C_{max} (ng/mL)	14.1	14.0	34.1	60.8[b]	79.5	79.0[c]
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	19.0	93.0	143	64.4[b]	152	332[c]

各時点 2 又は 3 個体の平均血漿中濃度から薬物動態パラメータを算出した。
a: Day 0 では、非連続な 2 時点でのみ測定可能であった。
b: 外れ値を含めると、AUC_{0-t} 及び C_{max} はそれぞれ 268 ng·h/mL 及び 105 ng/mL であった。
c : 外れ値を含めると、AUC_{0-t} 及び C_{max} はそれぞれ 575 ng·h/mL 及び 336 ng/mL であった。
本試験において、血漿中濃度測定（テナパノル塩酸塩として算出）に使用した標準物質の純度について、試験結果報告時に使用した分析値は分析法が確立されていない初期の分析結果（96 3%）であり、試験終了後に追加分析に基づき純度が更新された（86.8%）。純度の更新に伴い、真の血漿中薬物濃度は、テナパノル塩酸塩換算で、報告値の 1.1 倍となる。報告値と真の薬物濃度の乖離（10%）は、本邦の「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」（薬食審査発 0711 第 1 号平成 25 年 7 月 11 日）で定められている真度の許容基準（理論値の±15%以内）であり、薬物濃度から算出される全身曝露や本剤の薬物動態及び安全性プロファイルの解釈に与える影響は顕著でない。

3.3 ラット

3.3.1 テナパノル塩酸塩の単回投与試験（30 mg/kg）（RDX5791-PK-03）参考資料 4.2.2.2-3

絶食した雄性ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩を 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度を測定した。血漿中濃度を Table 3.3.1-1 に示す。

ほとんどの試料においてテナパノル濃度は定量下限（2 ng/mL）未満であり、検出された時点の中で最も高かった濃度は 4 ng/mL であった。

Table 3.3.1-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル塩酸塩濃度

時間 (h)	血漿中テナパノル濃度 (ng/mL)		
	No.1	No.2	No.3
0.5	BLQ	4	BLQ
1	3	BLQ	BLQ
2	BLQ	BLQ	BLQ
4	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ=定量下限（2 ng/mL）未満を示す。

3.3.2 テナパノル塩酸塩の単回投与試験（1 及び 10 mg/kg）（RDX5791-PK-04）参考資料 4.2.2.2-4

絶食した雄性ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度を測定した（テナパノル塩酸塩濃度として算出）。血漿中濃度を Table 3.3.2-1 に示す。

ほとんどの試料において血漿中濃度は定量下限（0.500 ng/mL、テナパノル塩酸塩濃度換算）未満であり、検出された時点の中で最も高かった濃度は 1.97 ng/mL であった。

Table 3.3.2-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）

投与量	1 mg/kg					10 mg/kg				
個体番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
時間 (h)	血漿中テナパノル濃度 (テナパノル塩酸塩濃度換算、ng/mL)									
0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.250	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.500	BLQ	BLQ	BLQ	1.11	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
8	BLQ[a]	BLQ	BLQ	1.33	BLQ	BLQ	BLQ	0.597	1.97	BLQ
24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ[a]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

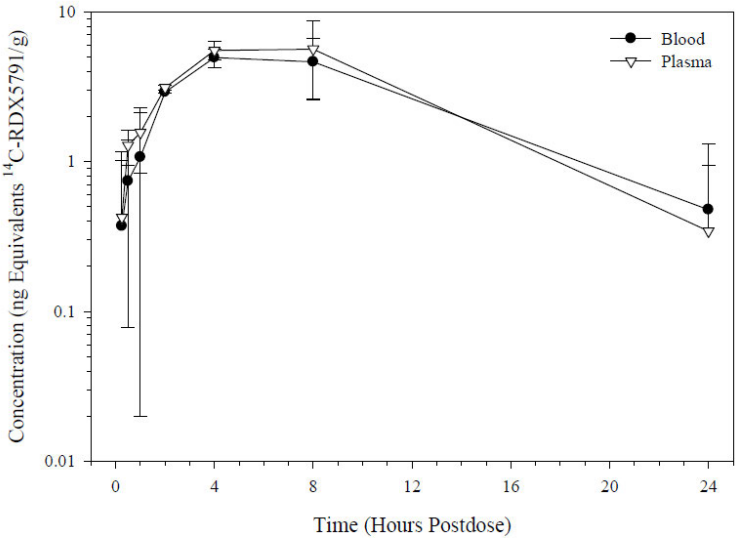
BLQ=定量下限（0.500 ng/mL、テナパノル塩酸塩濃度換算）未満を示す。
a: 1 ng/mL（テナパノル塩酸塩濃度換算）未満を示す（血漿試料を希釈して測定したため）。
本試験において使用した標準物質の純度に関して Table 3.2.2-1 の脚注に示した。

3.3.3 ^{14}C-テナパノル塩酸塩の単回投与試験（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5

雄性ラット（Sprague Dawley 系）に ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg（90.7～94.2 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能を測定した。血液及び血漿中放射能濃度を Figure 3.3.3-1 に示す。

血液及び血漿中放射能の C_{max} は、投与後 4 及び 8 時間でそれぞれ 4.94 及び 5.62 ng eq./g であった。血液及び血漿中の AUC_{0-t} はそれぞれ 70.5 及び 81.9 ng eq.·h/g であった。

Figure 3.3.3-1　雄性ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能濃度推移



RDX5791=テナパノル
平均値±標準偏差、3 例（時点ごと）

3.3.4　テナパノル塩酸塩及び M1 の 4 日間反復投与試験（RDX5791-M1-05）参考資料 4.2.2.2-6

雌雄ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩又は M1 をそれぞれ 5 及び 10 mg/kg の用量又は 5 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間反復経口投与したときの血漿中テナパノル及び M1 濃度を測定した。M1 の薬物動態パラメータを Table 3.3.4-1 及び Table 3.3.4-2 に示す。

テナパノル塩酸塩を 5 及び 10 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したとき、血漿中テナパノル濃度は、全試料において定量下限未満（<0.5 ng/mL）であった。M1 の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雄に比べて雌で高値であった。また、M1 は両性において反復投与により曝露が増加する傾向があり、その程度は 3 倍未満であった。

M1 を 5 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したとき、M1 の C_{max} 及び AUC_{0-t} はテナパノル塩酸塩を投与したときに比べて両性で高く、顕著な雌雄差は認められなかった。また、M1 は両性において反復投与により曝露が増加する傾向があったが、その程度は 2 倍未満であった。

Table 3.3.4-1　雌雄ラットにテナパノル塩酸塩を 5 及び 10 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ

性別	投与量 (mg/kg/day)	投与	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
雄	5	初回	1.00	2.04 ± 0.46	27.0 ± 4.00	NC
		4 回目	1.00	5.79 ± 1.59	81.5 ± 19.1	7.40
	10	初回	1.00	4.13 ± 0.775	45.3 ± 6.20	NC
		4 回目	2.00	6.18 ± 1.51	89.0 ± 19.3	7.10 ± 1.40
雌	5	初回	8.00	7.63 ± 2.22	117 ± 22.4	NC
		4 回目	4.00	16.5 ± 15.0	145 ± 63.8	NC
	10	初回	8.00	9.05 ± 1.96	150 ± 23.1	NC
		4 回目	1.00	12.3 ± 8.02	108 ± 60.9	NC

平均値±標準偏差（t_{max} は中央値）、n=3
NC=Not calculated（算出不能）

Table 3.3.4-2　雌雄ラットに M1 を 5 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ

性別	投与量 (mg/kg/day)	投与	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
雄	5	初回	1.00	1620 ± 282	9490 ± 1660	3.64 ± 1.15
		4 回目	0.250	2550 ± 633	11200 ± 1360	2.96 ± 0.920
	30	初回	0.500	9880 ± 1320	66100 ± 1750	2.73
		4 回目	0.500	12500 ± 704	116000 ± 24500	2.47 ± 0.686
雌	5	初回	1.00	2300 ± 332	15400 ± 175	4.97 ± 2.96
		4 回目	0.500	2520 ± 452	18600 ± 1750	3.03 ± 0.171
	30	初回	1.00	13200 ± 1150	122000 ± 5530	4.72 ± 1.04
		4 回目	1.25	17800 ± 1100	176000 ± 4010	3.90 ± 1.04

平均値±標準偏差（t_{max} は中央値）、n=3

3.3.5　テナパノル塩酸塩の 16 日間反復投与試験（RDX5791-TX-5）評価資料 4.2.3.2-6

雌雄ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩を 30、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 16 日間反復経口投与したときの血漿中テナパノル濃度を測定した（テナパノル塩酸塩濃度として算出）。投与初日（0 日目）及び 15 日目の薬物動態パラメータを Table 3.3.5-1 に示す。

テナパノルの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）はおおむね用量の増加に伴って上昇したが、雌では 0 及び 15 日目において、300 mg/kg の方が 100 mg/kg に比べて低い場合があった。テナパノルの曝露量は 15 日目の方が 0 日目に比べて高かった。

Table 3.3.5-1　雌雄ラットにテナパノル塩酸塩を 16 日間反復経口投与したときの薬物動態パラメータ

性別	投与量 (mg/kg/day)	Day 0			Day 15		
		t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)
雄	30	8	0.607	3.46	1	11.3	135
	100	0.5	2.20	9.33	1	22.5	164
	300	0.5	2.57	14.6	8	76.0	959
	1000	1	9.79	79.4	0.5	107	1317
雌	30	2	0.683	1.69	4	30.5	387
	100	1	5.34	58.6	2	50.0	413
	300	4	1.27	19.4	0.5	34.0	560
	1000	0.5	45.3	182	4	202	2759

各群 3 個体の平均血漿中濃度から薬物動態パラメータを算出。
本試験において使用した標準物質の純度に関して Table 3.2.2-1 の脚注に示した。

3.4　イヌ

3.4.1　単回投与（RDX5791-PK-05）参考資料 4.2.2.2-7

雄性イヌ（Beagle 系）にカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度を測定した（テナパノル塩酸塩濃度として算出）。血漿中濃度を Table 3.4.1-1 に示す。

ほとんどの試料において血漿中濃度は定量下限（0.500 ng/mL、テナパノル塩酸塩濃度換算）未満であり、検出された時点の中で最も高かった濃度は 3.30 ng/mL であった。

Table 3.4.1-1　雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）

投与量	1 mg/kg				10 mg/kg			
個体番号	1	2	3	4	5	6	7	8
時間 (h)	血漿中テナパノル濃度 (テナパノル塩酸塩濃度換算、ng/mL)							
0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.25	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
8	BLQ	0.542	3.30	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ=定量下限（0.500 ng/mL、テナパノル塩酸塩濃度換算）未満を示す。
本試験において使用した標準物質の純度に関して Table 3.2.2-1 の脚注に示した。

3.4.2　単回投与（RDX5791-PK-13）評価資料 4.2.2.2-8

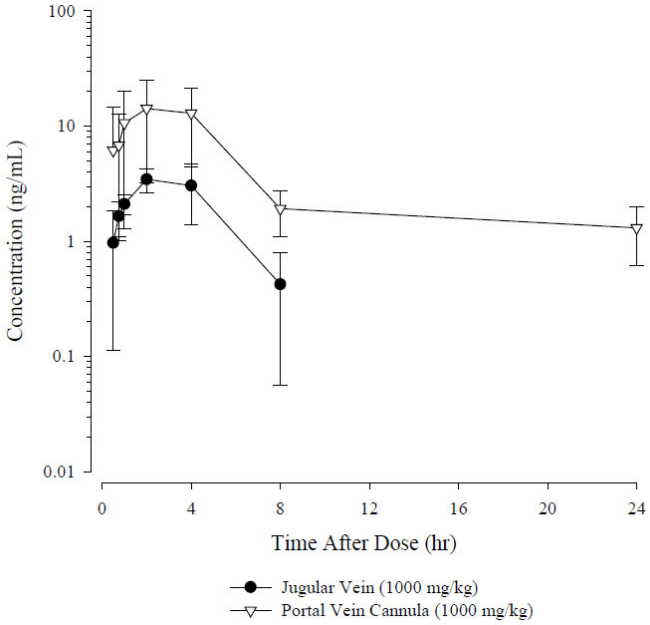
門脈カニュー　を挿入した雄性イヌ（Beagle 系）に、カプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル及び M1 濃度を測定した。テナパノル及び M1 の血漿中濃度推移をそれぞれ Figure 3.4.2-1 及び Figure 3.4.2-2 に示し、薬物動態パラメータを Table 3.4.2-1 に示す。

テナパノルについては、頸静脈及び門脈において、それぞれ t_{max} は 2.67 及び 3.33 時間、C_{max} は 4.26 及び 17.4 ng/mL、AUC_{0-t} は 15.5 及び 90.4 ng·h/mL であった。頸静脈及び門脈におけるテナパノルの $t_{1/2}$ は明確な消失相が認められなかったため算出不能であった。

M1 については、頸静脈及び門脈において、それぞれ t_{max} は 5.33 及び 5.33 時間、C_{max} は 13.0 及び 9.48 ng/mL、AUC_{0-t} は 152 及び 118 ng·h/mL であった。M1 の頸静脈中 $t_{1/2}$ は 6.13 時間であったが、門脈中 $t_{1/2}$ は明確な消失相が認められなかったため算出不能であった。

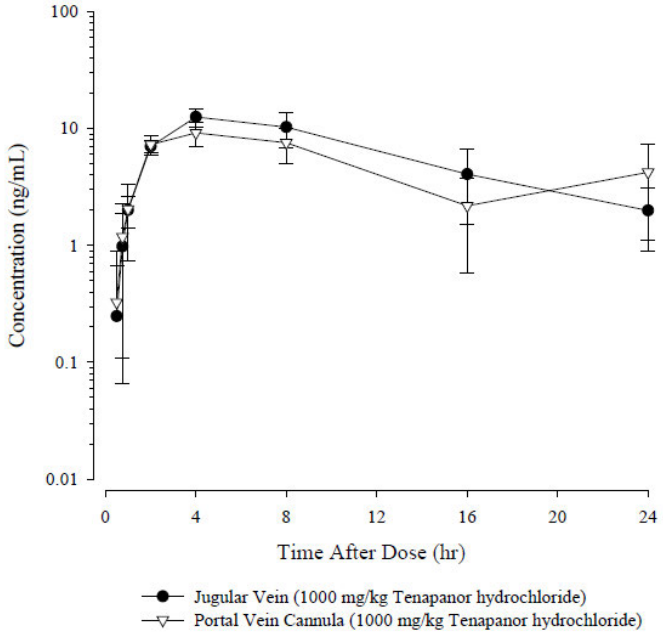
頸静脈中に対する門脈中の C_{max} 及び AUC_{0-t} の比は、テナパノルでは約 4～6 であり、M1 では約 0.7 であった。

Figure 3.4.2-1 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中テナパノル濃度推移



平均値±標準偏差、3 例
Jugular Vein=頸静脈、Portal Vein=門脈

Figure 3.4.2-2 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中 M1 濃度推移



平均値±標準偏差、3 例
Jugular Vein=頸静脈、Portal Vein=門脈

Table 3.4.2-1 雄性イヌにカプセル封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときのテナパノル及び M1 の薬物動態パラメータ

対象物質	採血	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
テナパノル	頸静脈	4.26 ± 0.576	2.67 ± 1.15	15.5 ± 6.15	18.9 ± 5.14	NC
	門脈	17.4 ±8.62	3.33 ± 1.15	90.4 ± 35.6	90.4 ± 35.6	NC
	パラメータ比 [a]（門脈／頸静脈）	4.02 ± 1.83	NA	5.82 ± 0.741	4.72 ± 1.09	NA
M1	頸静脈	13.0 ± 2.48	5.33 ± 2.31	152 ± 43.9	152 ± 43.9	6.13[b]
	門脈	9.48 ± 2.31	5.33 ± 2.31	118 ± 43.2	118 ± 43.2	NC
	パラメータ比 [a]（門脈／頸静脈）	0.725 ± 0.0453	NA	0.769 ± 0.138	0.769 ± 0.138	NA

平均値±標準偏差、n=3
NA=Not applicable（適応外）、NC=Not calculated（算出不能）
a: 門脈におけるパラメータを頸静脈におけるパラメータで除して算出した。
b: 平均値、n=2

3.4.3 9 ヵ月間反復投与（322009）評価資料 4.2.2.2-9

雌雄イヌ（Beagle 系）に、ゼラチンカプセルに封入したテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 9 ヵ月間反復経口投与したときの血漿中 M1 濃度を測定した。4 及び 38 週目の血漿中 M1 濃度から算出した薬物動態パラメータを Table 3.4.3-1 に示す。

4 及び 38 週目における M1 の全身曝露量は同程度であり、明らかな性差は認められなかった。

Table 3.4.3-1 雌雄イヌにテナパノル塩酸塩を 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 9 ヵ月間反復経口投与したときの M1 の薬物動態パラメータ

性別	週	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)
雄	4	8	21.3 ± 2.78	347 ± 41.9
	38	8	19.3 ± 2.72	334 ± 51.1
雌	4	8	19.4 ± 2.52	317 ± 31.9
	38	4	22.3 ± 3.13	346 ± 27.0

平均値±標準偏差（t_{max} を除く）、t_{max} のみ中央値、n=4

4 分布

4.1 ラットにおける組織中濃度（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5

雄性有色ラット（Long Evans 系）及び雄性アルビノラット（Sprague Dawley 系）に ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg（90.7～94.2 μCi/kg）の用量で単回経口投与した（各 1 例／時点）。組織等の放射能濃度は QWBA 法で評価した。安楽死時に血液を採取し、血液と血漿中の放射能を LSC で測定した。有色ラットについては投与後 0.5～168 時間までの複数時点、アルビノラットについては投与後 0.5～72 時間までの複数時点で評価した。有色ラットでの投与後 168 時間までにおける放射能濃度を Table 4.1-1 に示す。有色ラットでの投与後 4、48 及び 168 時間におけるオートラジオグラムをそれぞれ Figure 4.1-1、Figure 4.1-2 及び Figure 4.1-3 に、アルビノ

ラットでの投与後 4 及び 48 時間におけるオートラジオグラムをそれぞれ Figure 4.1-4 及び Figure 4.1-5 に示す。

両系統ともに、消化管の内容物で高い放射能が検出され、ほとんどの組織で放射能は定量下限未満であり、放射能の組織分布は限定的であった。両系統で共通して放射能が検出された組織等としては、消化管内容物の他に胃腸管組織（食道、胃、小腸、盲腸及び大腸）、肝臓、腎臓、肺、脾臓及び尿であった。また、有色ラットでは、上記の組織等の他にブドウ膜及び副腎でも放射能が検出された。有色ラット及びアルビノラットにおいて、それぞれ投与後 168 及び 48 時間までにすべての組織で放射能は定量下限未満となった。有色ラット及びアルビノラットの間で、^{14}C-テナパノル塩酸塩由来の放射能は類似した組織分布を示した。

Table 4.1-1 雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩（1 mg/kg）単回経口投与後の放射能濃度（定量可能であった組織のみ）

組織等	濃度 (ng eq. ^{14}C-テナパノル/g)								
	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	168 h
食道内容物	4220	550	1330	38.9	31.8	ND	ND	ND	ND
胃内容物	41700	53100	23800	7310	6420	ND	45.9	ND	ND
小腸内容物	12700	20000	31100	1310	2500	37.5	63.1	BLQ	ND
盲腸内容物	ND	ND	279	13900	4480	218	668	ND	ND
大腸内容物	ND	NR	ND	13800	17400	1190	642	BLQ	ND
食道	BLQ	BLQ	36.2	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
胃	75.4	32.2	35.4	38.1	BLQ	ND	ND	ND	ND
小腸	233	ND[a]	61.5	93.4	29.9	48.3	12.8	ND	ND
盲腸	ND	ND	13.6	26.3	41.7	BLQ	38.9	ND	ND
大腸	ND	ND	ND	BLQ	10.6	BLQ	15.2	ND	ND
肝臓	31.2	22.7	40.5	77.8	100	21,2	14.1	BLQ	ND
腎臓	ND	10.8	17.3	31.6	31.0	ND	ND	ND	ND
腎皮質	ND	12.4	20.4	35.5	39.4	ND	ND	ND	ND
腎髄質	ND	BLQ	BLQ	14.2	11.2	ND	ND	ND	ND
肺	ND	ND	BLQ	BLQ	11.6	ND	ND	ND	ND
脾臓	ND	ND	BLQ	10.4	ND	ND	ND	ND	ND
ブドウ膜	ND	ND	19.6	47.2	63.0	34.5	34.8	34.3	ND
副腎	ND	ND	ND[a]	15.0[b]	BLQ	ND	ND	ND	ND
尿	ND	NR	25.4	44.5	ND	ND	ND	ND	ND

BLQ=定量下限（10 2 ng eq.^{14}C-テナパノル/g）未満を示す。
eq.=equivalent
ND=Not detected、バックグラウンド又は周辺組織と識別不可能であった。
NR=Not represented、切片中に組織が存在しなかった。
a: 胃腸管内容物のフレアのため検出できなかった組織
b: 脂肪も含まれた組織

Figure 4.1-1　雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 4 時間）

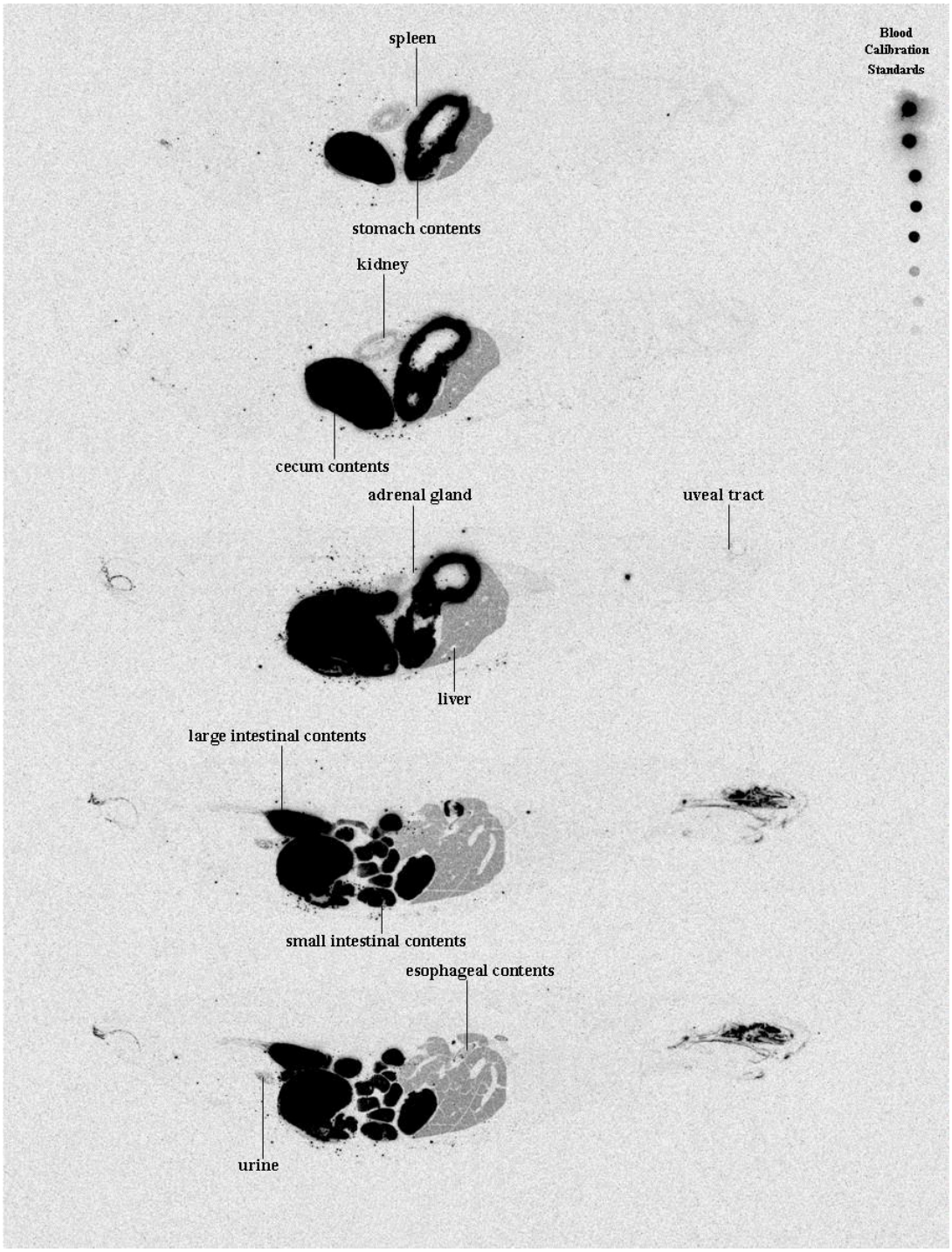


Figure 4.1-2　雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 48 時間）

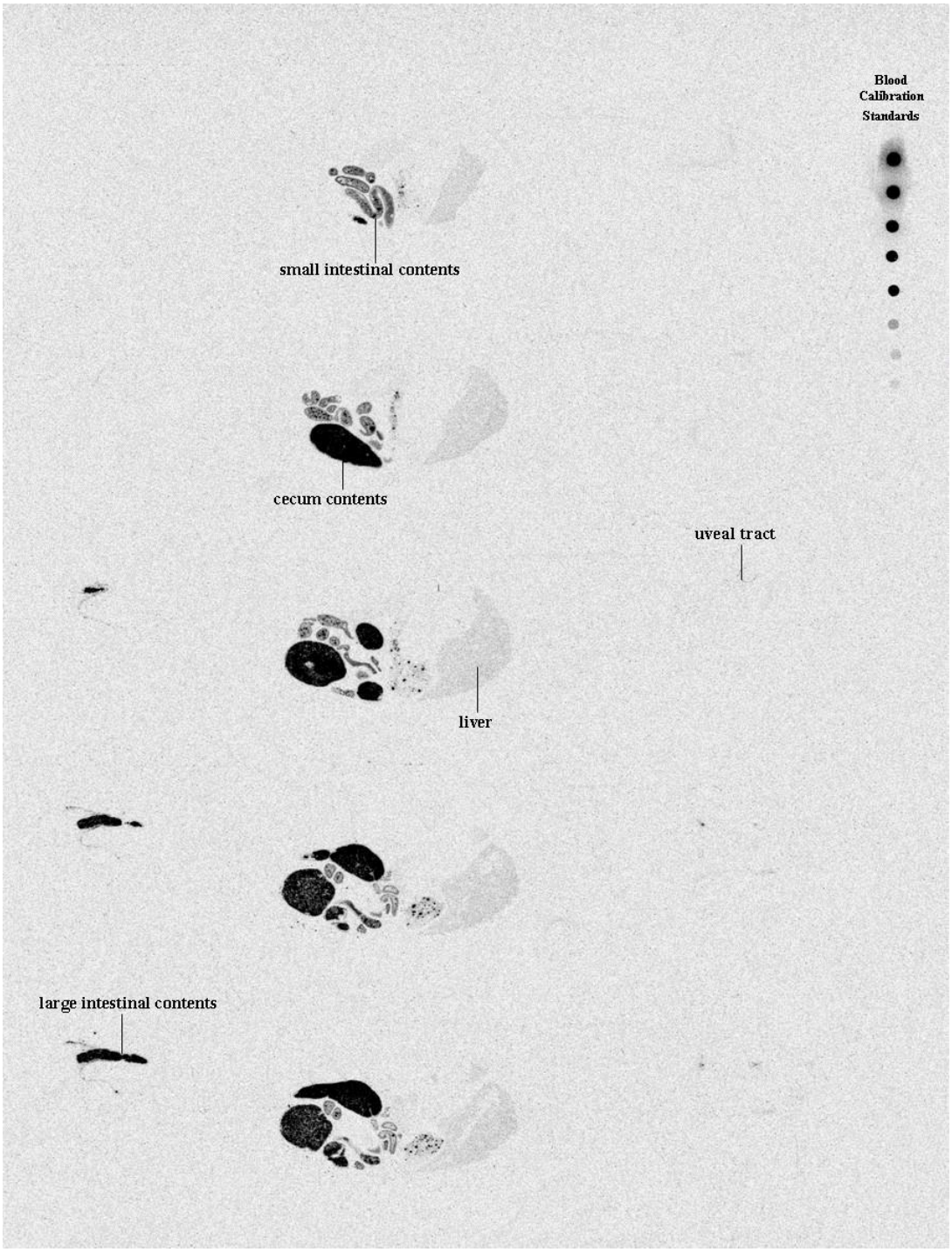


Figure 4.1-3　雄性有色ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 168 時間）

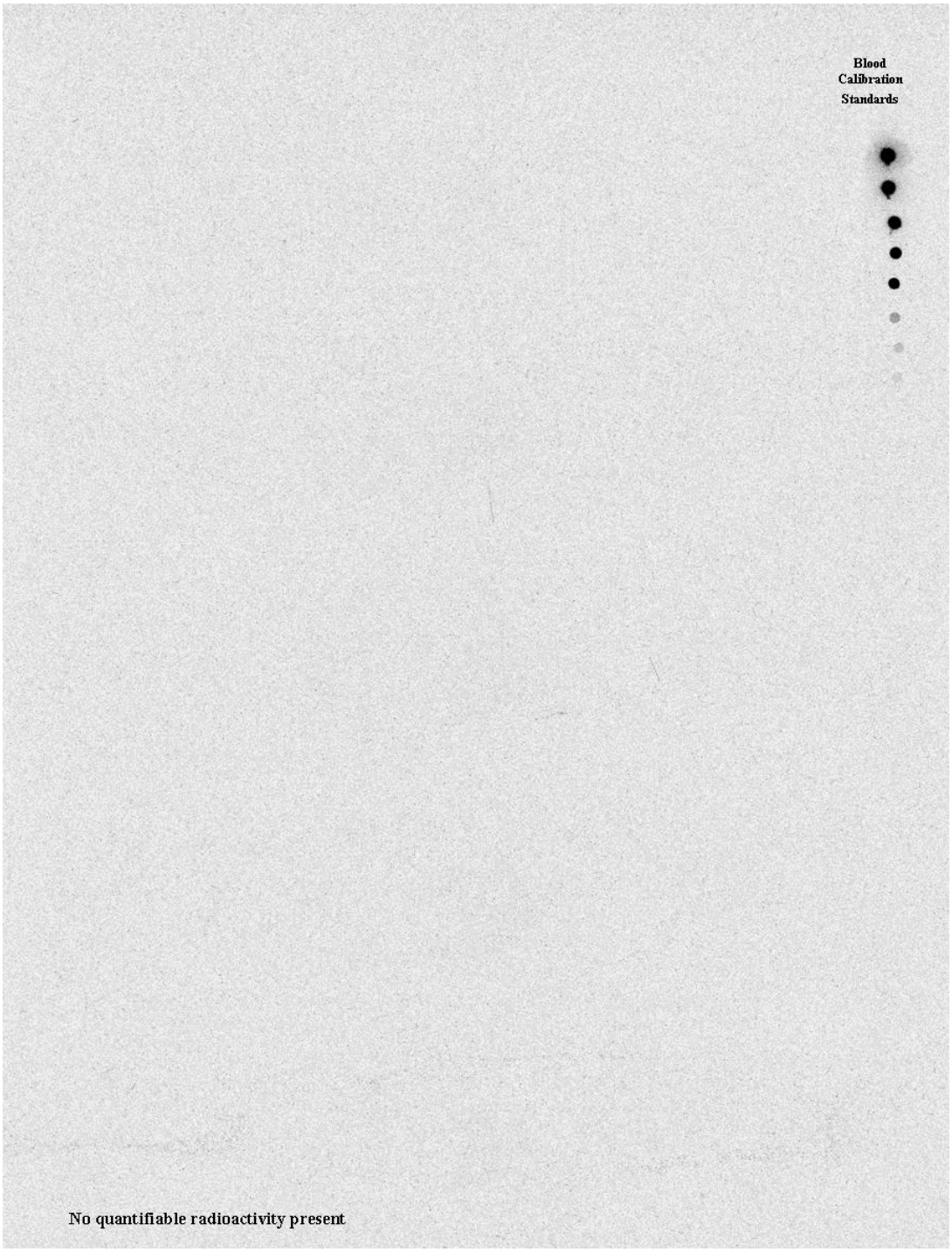


Figure 4.1-4　雄性アルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 4 時間）

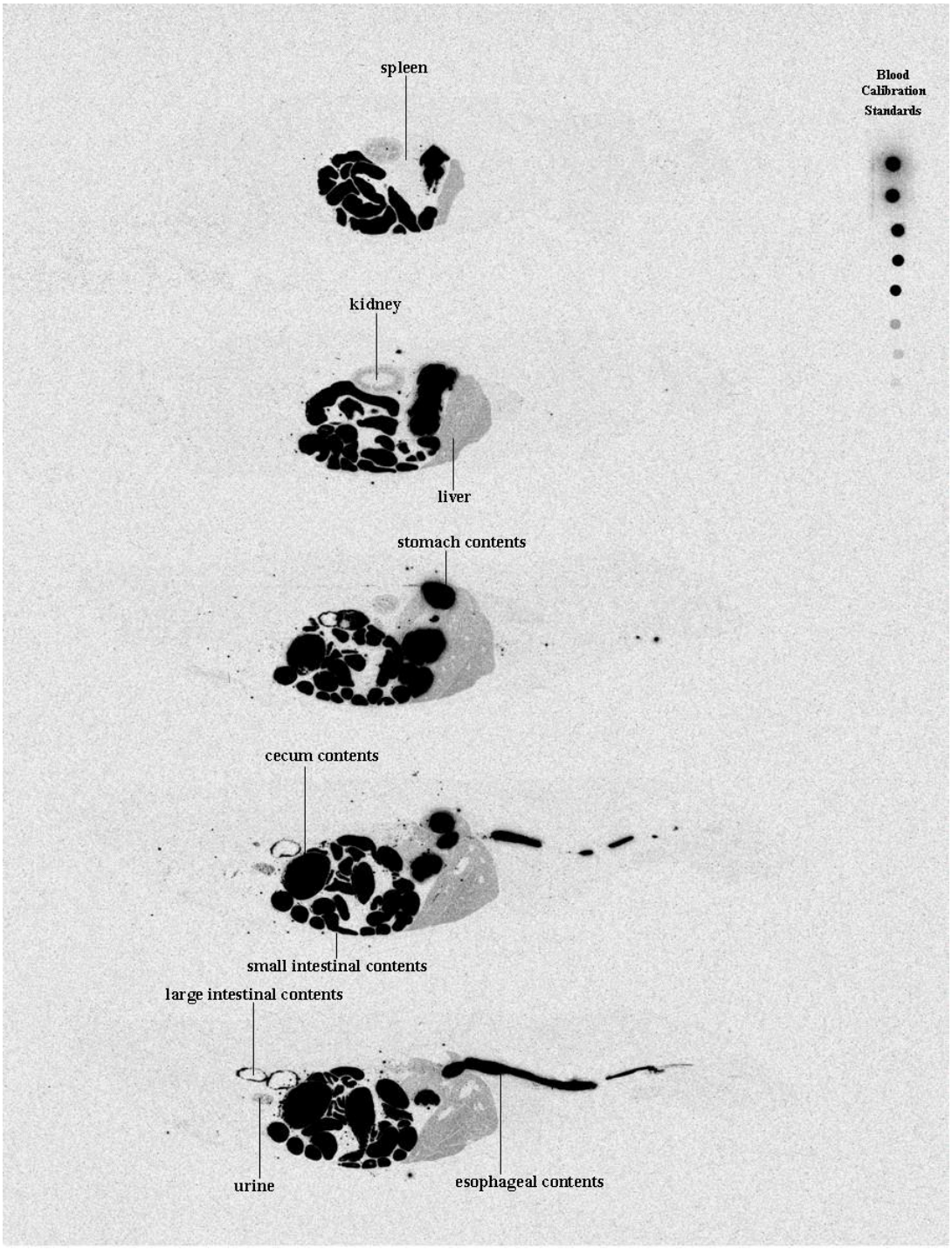
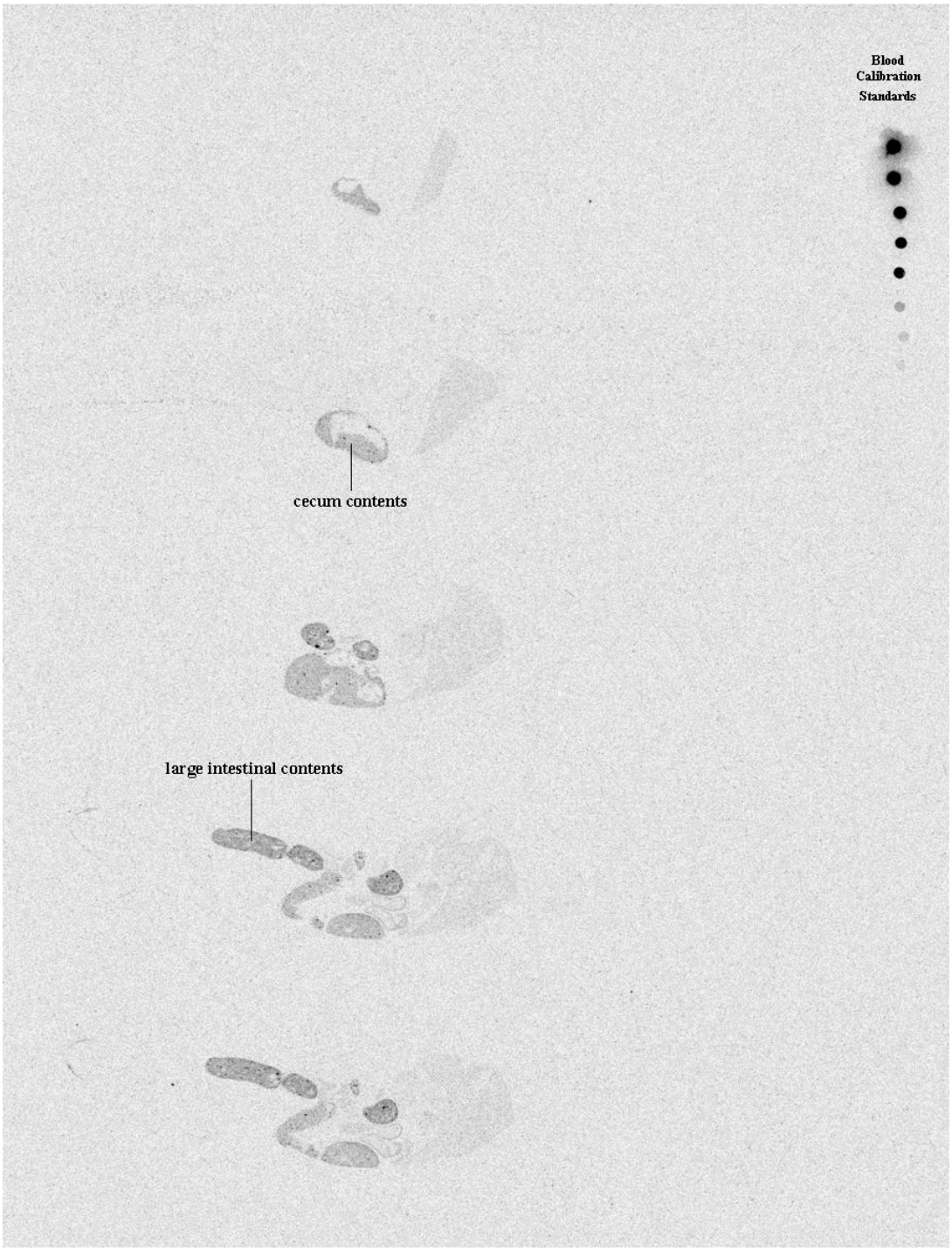


Figure 4.1-5　雄性アルビノラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときのオートラジオグラム（投与後 48 時間）



4.2 血漿蛋白結合及び Rb（RDX5791-PK-07, Rev. 2）参考資料 4.2.2.3-1、（ADME-[redacted]-0110）評価資料 4.2.2.3-2、（ADME-[redacted]-0318）評価資料 4.2.2.3-3、（ADME-[redacted]-0331）参考資料 4.2.2.3-4、（ADME-[redacted]-0704-BP）評価資料 4.2.2.3-5

4.2.1 テナパノル

マウス（CD-1 系、雄）、ラット（Han Wistar 又は Sprague Dawley 系、雄）、ウサギ（New Zealand White 系、雌）、イヌ（Beagle 系、雄）及びヒト（男性又は男女混合）におけるテナパノルの血漿蛋白非結合型分率を平衡透析法により評価した。テナパノルの in vitro 血漿蛋白非結合型分率は、100 μmol/L の濃度において、マウスでは 0.00100%未満、ラットでは 0.00701%、ウサギでは 0.00748%、イヌでは 0.00313%及びヒトでは 0.00300%であった（ADME-[redacted]-0110）。また、1 μmol/L の濃度において、テナパノルの in vitro 血漿蛋白非結合型分率は、ラットでは 0.1%、イヌでは 0%及びヒトでは 1.3%であった（RDX5791-PK-07, Rev. 2）。

4.2.2 M1

マウス（CD-1 系、雄）、ラット（Han Wistar 系、雄）、ウサギ（New Zealand White 系、雌）、イヌ（Beagle 系、雄）及びヒト（男性）における M1 の血漿蛋白非結合型分率を平衡透析法により評価した。M1 の in vitro 血漿蛋白非結合型分率は、0.01～10 μmol/L の濃度において、マウスでは 2.42%～4.52%、ラットでは 1.96%～2.91%、ウサギでは 4.46%～5.03%、イヌでは 4.93%～5.58%、ヒトでは 3.20%～3.43%であり、いずれの種においても濃度依存性は観察されなかった（ADME-[redacted]-0318）。

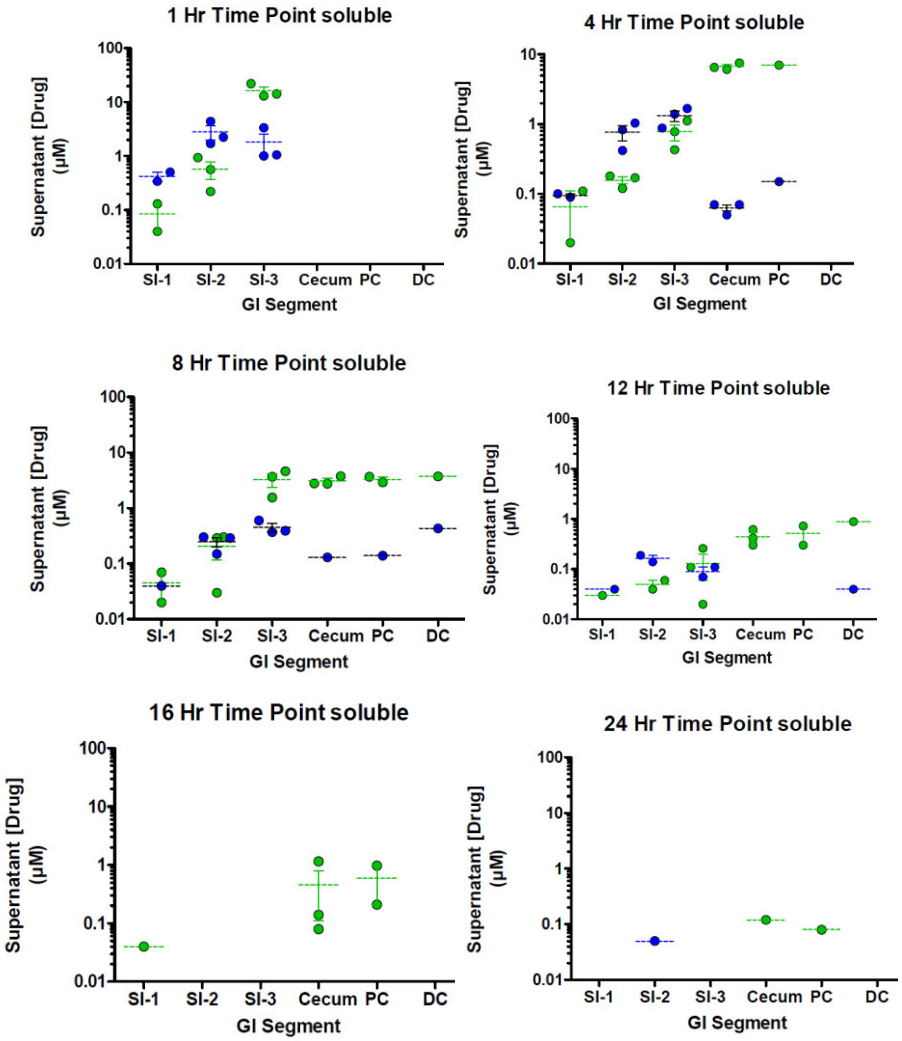
ヒトの全血に M1 を 0.03～3 μmol/L の濃度範囲で添加し、ヒトの R_b を評価した。M1 の in vitro におけるヒト R_b は 5.13～5.87 であり、明らかな濃度依存性は認められなかった。（ADME-[redacted]-0704-BP）。また、別の試験（ADME-[redacted]-0331）において M1 を 10 μmol/L の濃度で添加したときのヒト R_b は 16.7 であった。

4.3 ラットにおけるテナパノルの消化管内動態（RDX5791-PK-08.00）参考資料 4.2.2.3-6

ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩を 0.5 mg/kg の用量で単回経口投与した 1、4、8、12、16 及び 24 時間後に、十二指腸又は幽門弁より最初の 10 cm 遠位（SI-1）、SI-1 除去後の小腸近位 50%（SI-2）、SI-1 除去後の回盲弁への残存小腸の遠位 50%（SI-3）、盲腸、大腸の近位 50%（PC）及び大腸の肛門への遠位 50%（DC）を採取し、内容物を回収した。内容物を遠心した後の上清中及びペレット中のテナパノル濃度を LC/MS/MS を用いて定量した。水溶性の非吸収性マーカーである PEG3350（投与量 1 mg/kg）についても同様の評価を実施した。各消化管部位における上清中テナパノル濃度を Figure 4.3-1 に示す。

投与したテナパノルの大部分はペレット中に回収されたが、投与後 1 時間において、小腸（SI-1、SI-2 及び SI-3）の上清中のテナパノル濃度は in vitro の NHE3 に対する IC_{50} を十分に上回る高値を示し、その後、投与後 12 時間まで SI-2 及び SI-3 の上清中では IC_{50} を上回る濃度が維持された。これらの結果から、テナパノルは経口投与後の数時間にわたり、NHE3 阻害が期待される濃度で標的部位である消化管管腔に存在することが示唆された。

Figure 4.3-1　ラットにテナパノル塩酸塩を 0.5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの各消化管内部位における遠心上清中テナパノル濃度



青：テナパノル投与、緑：PEG3350 投与、GI=gastrointestinal（消化管）
個体別及び平均値（n=3）、LLOQ 未満の個体についてはプロットせず。

5　代謝

5.1　人工胃腸液中におけるテナパノルの安定性（RDX5791-PK-01）参考資料 4.2.2.4-1

ペプシン（3 mg/mL）を含有する人工胃液及びパンクレアチン（3 mg/mL）を含有する人工腸液に、最終濃度が 10 µmol/L となるようにテナパノルを添加して安定性を評価した。人工胃液及び人工腸液において、37°C で 3 時間インキュベーションしたときのテナパノルの残存率はそれぞれ 104%及び 94%であった。また、人工胃液において、37°C 及び 50°C で 6 日間インキュベーションしたときのテナパノルの残存率はそれぞれ 101%及び 98%であった。

5.2 In vitro 代謝（RDX5791-PK-06）参考資料 4.2.2.4-2

NADPH の存在下及び非存在下において、ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソーム（蛋白濃度 1 mg/mL）とテナパノル（最終濃度 20 μmol/L）を 1 時間反応させ、生成した代謝物を LC/MS/MS を用いて分析した。

テナパノルはいずれの種の肝ミクロソームにおいても代謝され、酸化的 N-又は O-脱アルキル化体と考えられる代謝物が複数生成した。各代謝物のクロマトグラムにおける保持時間、質量電荷比（m/z）及び相対的な存在量を Table 5.2-1 に示す。

ヒトの肝ミクロソームで認められた代謝物は、ラット及びイヌ肝ミクロソームの両方、又はラット肝ミクロソームで検出された。

Table 5.2-1 ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおけるテナパノルの代謝物

保持時間（分）	m/z	ラット	イヌ	ヒト
13.5	357	++	++	++
12.8	371	+	++	++
13.6	415	+	++	++
14.8	459	++	++	++
16.3	813	+	+	++
14.8	543	++	++	ND
17.9	528	+	ND	+
17.9	597	++	ND	+
17.9	651	++	ND	+

++：観察された代謝物のうち、各種において見かけの存在量が多い上位 5 つの代謝物
+：観察された代謝物
ND=Not detected（検出不能）
テナパノルの保持時間は 23.4 分であった。

5.3 In vivo 代謝（[redacted]381-38）評価資料 5.3.3.1-3、（[redacted]381-39）評価資料 4.2.2.4-3

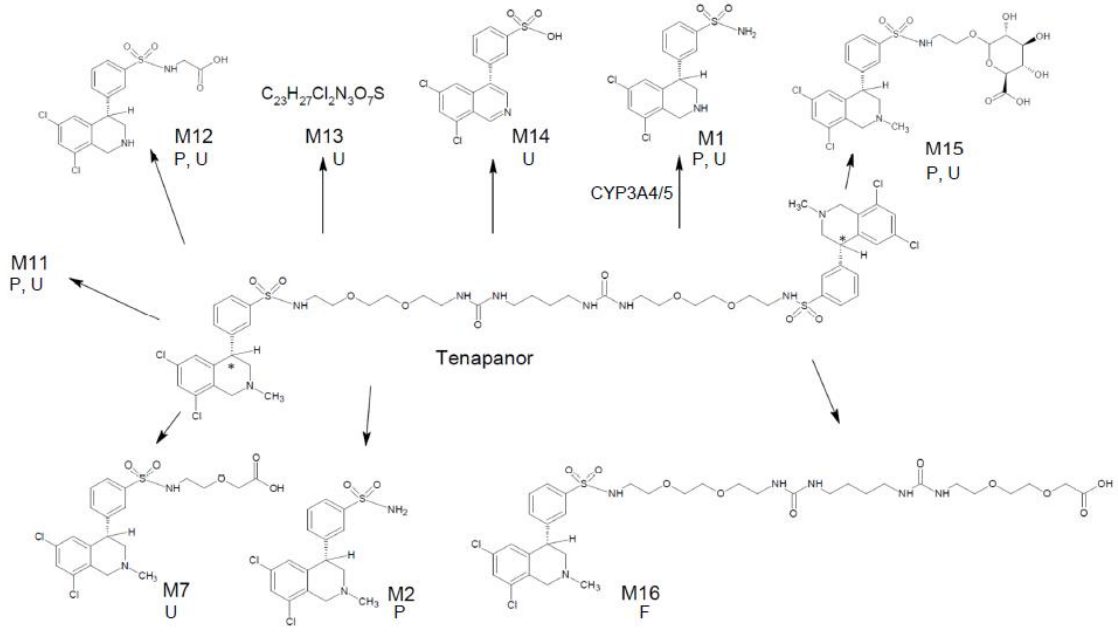
健康成人男性に 15.2 mg（11.1 MBq）の用量で ^{14}C-KHK7791 を単回経口投与したときの血漿、尿及び糞中の代謝物を分析した。推定された代謝経路を Figure 5.3-1 に示す。

ヒトの血漿、尿又は糞をプールした試料にお て 9 種類の代謝物が検出された。血漿には 5 種類の代謝物（M1、M2、M11、M12 及び M15）が検出され、M1 は血漿中総放射能の 16%を占めたが、その他の代謝物はいずれも 10%未満だった。生成した代謝物はいずれも酸化的 N-又は O-脱アルキル化体と考えられた（[redacted]381-38：D5611C00007（5.3.3.1-3）の代謝物分析報告書）。

M1 及び M2 の曝露量を算出するため、健康成人を対象とした薬力学に関する臨床試験（D5611C00002 試験）、ラット 3 ヵ月毒性試験（4.2.3.2-7）、イヌ 3 ヵ月毒性試験（4.2.3.2-11）、CByB6F1 ハイブリッドマウス用量設定毒性試験（4.2.3.4.2-2）及び CD-1 マウス小核試験（4.2.3.3.2-1）の血漿検体を用い、それぞれプールした血漿試料中のテナパノル、M1 及び M2 の濃度を測定した（Table 5.3-1）。

M1 はいずれの種においても検出され、CD-1 マウス、CByB6F1 マウス、ラット及びイヌにおける M1 濃度は、テナパノル塩酸塩を健康成人に 1 日 2 回 15 mg の用量で経口投与したときの M1 濃度と比べて、それぞれ 0.57～2.66 倍、0.13～0.15 倍、0.13～0.33 倍及び 1.62 倍であった。M2 はイヌを除いた各動物種の血漿試料において M1 に比べて低濃度であった（[redacted]381-39）。

Figure 5.3-1　ヒトにおけるテナパノルの推定代謝経路



*^{14}C 標識位置
P=血漿中代謝物、U=尿中代謝物、F=糞中代謝物
参照：試験報告書番号[redacted]381-38（D5611C00007 試験の代謝物分析報告書）

Table 5.3-1　ヒト及び動物のプール血漿中テナパノル、M1 及び M2 濃度

種	性別	投与量及び採血日	テナパノル (nmol/L)	M1 (nmol/L)	M2 (nmol/L)	M1 曝露比 (動物／ヒト)
マウス (CD-1)	M	500 mg/kg、Day 2	17.9	29.2	13.4	0.57
	F	500 mg/kg、Day 2	65.9	32.0	14.5	0.63
	M	1000 mg/kg、Day 2	611.2	82.6	31.2	1.62
	F	1000 mg/kg、Day 2	68.3	47.1	22.2	0.92
	M	2000 mg/kg、Day 2	96.5	84.2	38.8	1.65
	F	2000 mg/kg、Day 2	118.2	135.6	44.7	2.66
マウス (CByB6F1)	M	400 mg/kg、Day 28	16.0	7.9	5.1	0.15
	F	400 mg/kg、Day 28	17.9	6.7	4.7	0.13
ラット	M	5 mg/kg、Day 89	<1	6.5	<1	0.13
	F	5 mg/kg、Day 89	<1	17.0	<1	0.33
イヌ	M+F	1000 mg/kg、Day 89	10.6	82.5	143.1	1.62
ヒト	M	1 日 2 回、15 mg、Day 4	ND	51.0	11.6	NA

M：雄又は男性、F：雌、曝露比=動物におけるプール血漿中 M1 濃度／ヒトにおけるプール血漿中 M1 濃度
NA=Not applicable（適応外）
ND=Not detected（検出不能）
参照：試験報告書番号[redacted]381-39

5.4　代謝酵素の同定

5.4.1　CYP（ADME-[redacted]-[redacted](CYP Isoform ID)-[redacted]0527）評価資料 4.2.2.4-4

テナパノル（2 μmol/L）を各 CYP 分子種のリコンビナントタンパク質（100 pmol/mL）と反応させ、代謝酵素を同定し、寄与率を算出した。検討した CYP 分子種は、ヒト CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4 及び

CYP3A5 とした。テナパノルの消失速度より算出した CL_{int} 及び各 CYP あたりの寄与率を Table 5.4.1-1 に示す。

テナパノルの代謝において、CYP3A4 及び CYP3A5 の寄与が最も大きく、その寄与率はそれぞれ 56.8%及び 39.8%であった。CYP2E1 を除くその他の CYP 分子種として、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 においてもテナパノルの代謝が観察され、その寄与率はそれぞれ 0.301%、0.0450%、0.0113%、2.19%、0.308%、0.225%及び 0.358%であった。また、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 及び CYP3A5 はテナパノルからの M1 の生成に関与し、M1 の生成速度は CYP3A4 及び CYP3A5 で最も高かった。

Table 5.4.1-1 ヒト CYP 分子種の CL_{int} 及び寄与率

CYP 分子種	CL_{int}（μL/min/pmol CYP）	寄与率 [a]（% of total）
CYP1A2	0.199 ± 0.0334	0.301
CYP2A6	0.0773 ± 0.0206	0.0450
CYP2B6	0.0229 ± 0.0396[b]	0.0113[b]
CYP2C8	3.14 ± 0.155	2.19
CYP2C9	0.258 ± 0.0307	0.308
CYP2C19	0.441 ± 0.0303	0.225
CYP2D6	1.64 ± 0.303	0.358
CYP2E1	NC	NC
CYP3A4	9.11 ± 0.821	56.8
CYP3A5	8.45 ± 0.425	39.8

平均値±標準偏差、n=3
NC=Not calculated（算出不能）
a: 各 CYP 分子種の寄与率は、各 CYP 分子種のリコンビナントタンパク質で得られた CL_{int} を、ヒト肝ミクロソーム中の発現量比及びリコンビナントタンパク質とヒト肝ミクロソームの評価系間における補正係数（inter-system extrapolation factor）を用いて補正し、すべての CYP 分子種での総和に対する割合として算出した。
b: 3 回の評価のうち、1 回の評価においてのみ CL_{int} 及び寄与率の算出が可能であった。

5.4.2 FMO（RDX5791-PK-15）参考資料 4.2.2.4-5

テナパノルの代謝における FMO の寄与を評価するために、NADPH 存在下又は非存在下において、テナパノル（1 μmol/L）をヒト肝ミクロソーム（蛋白濃度 0.5 mg/mL）と反応させ代謝安定性を評価した。ヒト肝ミクロソームを 50°C 又は ABT とのプ インキュベーションを行うことで、FMO を不活性化又は CYP を阻害した。CYP 及び FMO の代謝の陽性対照として、ニフェジピン及びトリメチルアミン（TMA）を用いた。ヒト肝ミクロソームにおけるテナパノルの CL_{int} を Table 5.4.2-1 に示す。

CYP 代謝の典型的基質であるニフェジピンは、阻害薬である ABT とのプレインキュベーションにより、NADPH 存在下で CL_{int} が低下した（約 88%の低下）。同条件下で、テナパノルの CL_{int} はニフェジピンと同程度低下し（約 86%の低下）、あわせて M1 の生成も低下した。FMO 代謝の典型的基質である TMA からトリメチルアミン N-オキシドが生成され、その生成は ABT によって阻害されず、50°C のプレインキュベーション後にほぼ完全に阻害された。テナパノルについては、50°C のプ インキュベーションによる CL_{int} の低下はニフェジピンと同程度であり（約 48%の低下）、ABT とのプ インキュベーションによる低下の程度と比較して低かった。これらのことから、テナパノルの代謝に対する FMO の寄与は CYP に比べて相対的に低いと考えられた。

Table 5.4.2-1 ヒト肝ミクロソームにおけるテナパノル及びニフェジピンの CL_{int}

被験物質	CL_{int} (μL/min/mg protein)		
	コントロール（ミクロソームのみ）	+ABT	+50°C
テナパノル	744	101	389
ニフェジピン	265	33.1	123

平均値、n=2

5.5 ヒト肝及び小腸ミクロソームにおけるテナパノルの代謝安定性（RDX5791-PK-14）参考資料 4.2.2.4-6

NADPH 存在下において、テナパノル（1 μmol/L）をヒト肝及び小腸ミクロソーム（蛋白濃度 1 mg/mL）と反応させることで代謝安定性を評価した。肝及び小腸ミクロソームにおけるテナパノルの CL_{int} はそれぞれ 927 及び 592 μL/min/mg protein であった。

5.6 アロクロール - 1254 誘導ラット肝 S9 画分におけるテナパノルの代謝物の評価（[redacted]381-43）参考資料 4.2.2.4-7

1、4 及び 7% DMSO 存在下において、テナパノル（100 μmol/L）をアロクロール-1254 誘導ラット肝 S9 画分と反応させることで、M1 の生成を評価した。3 時間インキュベーション後の M1 生成濃度は、1、4 及び 7% DMSO 存在下において、それぞれ 742、671 及び 461 nmol/L であった。

5.7 マウス、ラット及びヒト肝ミクロソームにおける M1 の代謝安定性（RDX5791-M1-08）参考資料 4.2.2.4-8

NADPH 存在下において、M1（1 μmol/L）をマウス、ラット及びヒト肝ミクロソームと反応させることで代謝安定性を評価した。マウス、ラット及びヒト肝ミクロソームにおける M1 の CL_{int} は、それぞれ 361、68.2 及び 16.3 μL/min/mg protein であった。

5.8 酵素誘導及び阻害

5.8.1 テナパノル

5.8.1.1 CYP 誘導作用（00017/0022/0024/0025CYP_IND_HepaRG_AZ13667691）参考資料 4.2.2.4-9

HepaRG 細胞にテナパノルを 0.0001～50 μmol/L の濃度で 24 時間曝露させた後、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 量を測定した。CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の溶媒（0.5 v/v% DMSO）対照群に対する mRNA の誘導倍率及び EC_{50} を Table 5.8.1.1-1 に示す。

溶媒対照群と比較して、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の陽性対照（それぞれオメプラゾール、フェノバルビタール及び CITCO、並びにリファンピシン）による mRNA の最大誘導倍率が少なくとも 13 倍以上の条件で評価を実施した。テナパノルは 50 μmol/L で細胞毒性を示したが、20 μmol/L では示さなかった。テナパノルは 20 μmol/L までの濃度では CYP1A2 及び CYP2B6 に対する誘導作用を示さなかった。CYP3A4 については 4 試験中 1 試験で mRNA の増加が認められ、E_{max} 及び陽性対照反応率はそれぞれ 5.53 及び 15.5%と算出されたが、最高評価濃度において細胞毒性が認められ、より低い評価濃度においては mRNA の増加に明確なテナパノル濃度依存性は認められなかった。濃度依存性が認められなかった 1 試験を除いた他の 2 試

験では、CYP3A4 mRNA の誘導は認められなかった。これらのことから、テナパノルは CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用はないと考えられた。

Table 5.8.1.1-1 HepaRG 細胞におけるテナパノルの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用

CYP 分子種	試験番号 [a]	陽性対照及び被験物質	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}	最大誘導倍率	陽性対照反応率 (%)
CYP1A2	00017	オメプラゾール	NC	NC	32.0	100
		テナパノル	NA	NA[b]	誘導なし [b]	誘導なし
	00022	オメプラゾール	NC	NC	229	100
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
	00024	オメプラゾール	NC	NC	110	100
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
	00025	オメプラゾール	NC	NC	95.0	100
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
CYP2B6	00017	フェノバルビタール	NC	NC	17.0	100
		CITCO	NC	NC	13.2	76.4
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
	00022	フェノバルビタール	NC	NC	25.2	100
		CITCO	NC	17.1 ± 1.4	NA	66.4
		テナパノル	NC	NC[c]	4.04[c]	12.6
	00024	フェノバルビタール	NC	NC	18.0	100
		CITCO	0.017 ± 0.003	18.5 ± 0.6	NA	103
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
	00025	フェノバルビタール	125 ± 6	24.1 ± 0.4	NA	100
		CITCO	NC	30.5 ± 4.5	NA	128
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
CYP3A4	00017	リファンピシン	NC	NC	29.9	100
		テナパノル	NC	5.53 ± 0.51[b]	NA[b]	15.5
	00022	リファンピシン	NC	NC	18.4	100
		テナパノル	NC	NC[c]	3.46[c]	14.1
	00024	リファンピシン	0.78 ± 0.22	46.8 ± 3.5	NA	100
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし
	00025	リファンピシン	NC	44.0 ± 1.0	NA	100
		テナパノル	NA	NA	誘導なし	誘導なし

平均値±標準偏差、n=3
NA=Not applicable（適応外）
NC=Not calculated（算出不能）
a: テナパノルの評価濃度範囲は試験番号 00017 では 0.21～50 μmol/L、その他の試験番号では 0.0001～20 μmol/L であった。
b: 細胞毒性による mRNA の誘導抑制が認められた。
c: 低濃度域での mRNA の抑制傾向及び高濃度域での mRNA の誘導が認められた。

5.8.1.2 CYP 可逆的阻害作用（00008CYP_INH_LCMS_2_AZ13667691）評価資料 4.2.2.4-10、（ADME-[redacted]0110）評価資料 4.2.2.4-11

ヒト肝ミクロソームを用いて、主要な CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A）に対するテナパノルの可逆的阻害作用を 0.1～30 μmol/L の添加濃度で評価した。各 CYP 分子種に対するテナパノルの IC_{50} を Table 5.8.1.2-1 に示す。

CYP1A2 に対して可逆的阻害作用は認められなかった。CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A に対する IC_{50} は、それぞれ 15.4、10.4、14.2、3.26 並びに 0.402 及び 0.68 μmol/L であった。CYP2C19 に対するテナパノルの IC_{50} は 30 μmol/L より大きかった。

Table 5.8.1.2-1 CYP 分子種に対するテナパノルの可逆的阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)
CYP1A2	フェナセチン	NI
CYP2B6	ブプロピオン	15.4
CYP2C8	アモジアキン	10.4
CYP2C9	ジクロフェナク	14.2
CYP2C19	*S*-メフェニトイン	>30[a]
CYP2D6	ブフラロール	3.26
CYP3A	ミダゾラム	0.402
	ニフェジピン	0.68

NI=No inhibition（阻害なし）
a: 最大評価濃度の 30 μmol/L における阻害率が 50%未満であったため IC_{50} を算出できなかった。

5.8.1.3 CYP 時間依存的阻害作用（ADME-[redacted]-[redacted]1206-CYP TDI）評価資料 4.2.2.4-12

ヒト肝ミクロソームを用いて、主要な CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A）に対するテナパノルの時間依存的阻害作用を 0.03～10 μmol/L の添加濃度で評価した。各 CYP 分子種に対するテナパノルの IC_{50} を Table 5.8.1.3-1 に示す。

CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して、NADPH 存在下及び非存在下におけるプ インキュベーション後の IC_{50} は 10 μmol/L より大きい又は阻害作用が認められなかった。CYP3A に対する IC_{50} は 5.92 μmol/L であり、NADPH 存在下及び非存在下におけるプレインキュベーション後の IC_{50} はそれぞれ 6.82 及び 8.41 μmol/L であり、差がなかった。これらのことから、テナパノルは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して時間依存的阻害作用を示さないと考えられた。

Table 5.8.1.3-1 CYP 分子種に対するテナパノルの時間依存的阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)		
		プレインキュベーションなし	NADPH 非存在下、30 分間プレインキュベーション	NADPH 存在下、30 分間プレインキュベーショ
CYP1A2	フェナセチン	NI	NI	>10[a]
CYP2B6	ブプロピオン	NI	NI	NI
CYP2C8	アモジアキン	>10[a]	>10[a]	>10[a]
CYP2C9	ジクロフェナク	NI	NI	NI
CYP2C19	*S*-メフェニトイン	NI	NI	NI
CYP2D6	ブフラロール	>10[a]	NI	>10[a]
CYP3A	ミダゾラム	5.92	8.41	6.82

NI=No inhibition（阻害なし）
a: 最大評価濃度の 10 μmol/L における阻害率が 50%未満であったため IC_{50} を算出できなかった。

5.8.2 M1

5.8.2.1 CYP 誘導作用（ADME-[redacted]0704-CYP Induction）評価資料 4.2.2.4-13

ヒト凍結肝細胞（3 ロット）に M1 を 0.03～10 μmol/L の濃度で 72 時間曝露させた後、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 量を測定した。CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の溶媒対照群に対する mRNA の誘導倍率及び EC_{50} を Table 5.8.2.1-1 に示す。

評価に用いた M1 の濃度範囲において、細胞毒性は認められなかった。各 CYP 分子種の mRNA の最大誘導倍率 4 倍をカットオフ値と定めた。M1 は CYP1A2 に対する誘導作用を示さなかった。CYP2B6 については、3 ロット中 1 ロットにおいて、CYP3A4 については 3 ロット中 2 ロットにおいて誘導作用を示した。

Table 5.8.2.1-1 ヒト凍結肝細胞における M1 の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用

肝細胞ロット	被験物質及び陽性対照	CYP 分子種	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}
RMH	M1	CYP1A2	NC	NC
		CYP2B6	0.919 ± 0.273	2.55 ± 0.344
		CYP3A4	0.988 ± 0.230	4.29 ± 0.286
	オメプラゾール	CYP1A2	3.21 ± 0.491	6.74 ± 0.311
	フェ　バルビタール	CYP2B6	NC	>12.4
	リファンピシン	CYP3A4	NC	14.4 ± 1.64
UYL	M1	CYP1A2	NC	NC
		CYP2B6	NC	>4.27
		CYP3A4	1.24 ± 0.109	15.9 ± 0.592
	オメプラゾール	CYP1A2	NC	>19.9
	フェノバルビタール	CYP2B6	NC	>16.3
	リファンピシン	CYP3A4	0.361 ± 0.0958	16.4 ± 0.581
OFA	M1	CYP1A2	NC	NC
		CYP2B6	NC	NC
		CYP3A4	1.01 ± 0.277	1.91 ± 0.117
	オメプラゾール	CYP1A2	NC	>11.8
	フェ　バルビタール	CYP2B6	NC	>20.3
	リファンピシン	CYP3A4	NC	>13.3

平均値±標準偏差、n=3
NC=Not calculated（算出不能）

5.8.2.2 CYP 可逆的阻害作用（ADME-[redacted]0323）評価資料 4.2.2.4-14、（ADME-[redacted]3-[redacted]0417）評価資料 4.2.2.4-15

ヒト肝ミクロソームを用いて、主要な CYP 分子種（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A）に対する M1 の可逆的阻害作用を 0.1～30 μmol/L の添加濃度で評価した。各 CYP 分子種に対する M1 の IC_{50} を Table 5.8.2.2-1 に示す。

CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 に対して可逆的阻害作用は認められなかった。CYP2B6 及び CYP2C19 に対する M1 の IC_{50} は 30 μmol/L より大きかった。CYP2D6 及び CYP3A に対する M1 の IC_{50} はそれぞれ 1.95 μmol/L 並びに 0.0813 及び 0.110 μmol/L であった。

Table 5.8.2.2-1　CYP 分子種に対する M1 の可逆的阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)
CYP1A2	フェナセチン	NI
CYP2A6	クマリン	NI
CYP2B6	ブプロピオン	>30[a]
CYP2C8	アモジアキン	NI
CYP2C9	ジクロフェナク	NI
CYP2C19	*S*-メフェニトイン	>30[a]
CYP2D6	ブフラロール	1.95 ± 0.492
CYP2E1	クロルゾキサゾン	NI
CYP3A	ミダゾラム	0.0813 ± 0.0338[b]
CYP3A	ニフェジピン	0.110 ± 0.0262[c]

平均値±標準偏差、n=3
NI=No inhibition（阻害なし）
a: 最高評価濃度の 30 μmol/L において阻害が認められたが IC_{50}は算出できなかった。
b: 試験報告書番号 ADME-[redacted]0323
c: 試験報告書番号 ADME-[redacted]0417

5.8.2.3　CYP 時間依存的阻害作用（ADME-[redacted]1207-CYP TDI）評価資料 4.2.2.4-16

ヒト肝ミクロソームを用いて、主要な CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A）に対する M1 の時間依存的阻害作用を 0.03～10 μmol/L の添加濃度で評価した。各 CYP 分子種に対する M1 の IC_{50} を Table 5.8.2.3-1 に示す。

CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して、NADPH 存在下及び非存在下におけるプ　インキュベーション後の IC_{50} は 10 μmol/L より大きい又は阻害作用が認められなかった。CYP3A に対する IC_{50} は 4.70 μmol/L であり、NADPH 存在下及び非存在下におけるプレインキュベーション後の IC_{50} はそれぞれ 5.28 及び 4.84 μmol/L であり、差がなかった。これらのことから、M1 は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して時間依存的阻害作用を示さないと考えられた。

Table 5.8.2.3-1　CYP 分子種に対する M1 の時間依存的阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)		
		プレインキュベーションなし	NADPH 非存在下、30 分間プレインキュベーション	NADPH 存在下、30 分間プレイ　キュベーショ
CYP1A2	フェナセチン	>10[a]	NI	NI
CYP2B6	ブプロピオン	NI	NI	NI
CYP2C8	アモジアキン	>10[a]	NI	NI
CYP2C9	ジクロフェナク	NI	NI	NI
CYP2C19	*S*-メフェニトイン	>10[a]	NI	>10[a]
CYP2D6	ブフラロール	>10[a]	NI	>10[a]
CYP3A	ミダゾラム	4.70	4.84	5.28

NI=No inhibition（阻害なし）
a: 最高評価濃度の 10 μmol/L において阻害が認められたが IC_{50}は算出できなかった。

6 排泄

6.1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を単回経口投与したときの糞中排泄（RDX5791-PK-02）参考資料 4.2.2.5-1

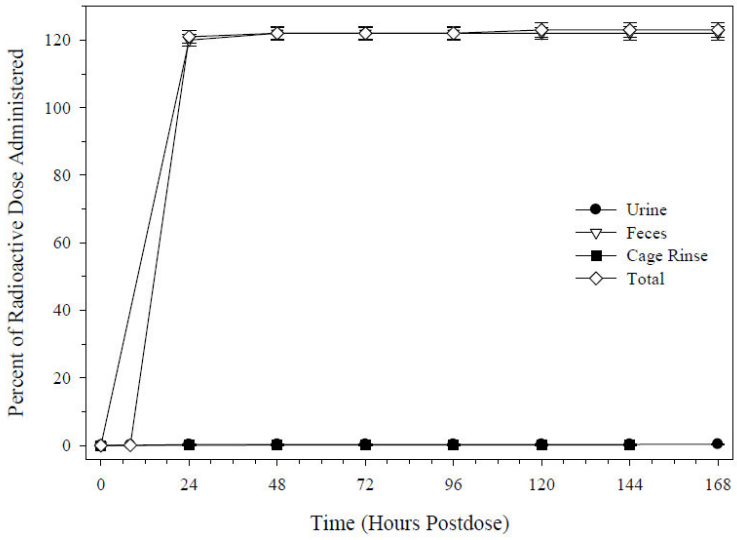
雄性ラット（Sprague Dawley 系）にテナパノル塩酸塩を 0.1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの、投与後 72 時間までの未変化体の糞中排泄を評価した。投与後 72 時間までのテナパノルの平均糞中排泄率は 92.2%（3 例）であった。

6.2 雄性ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄（RDX5791-PK-10.00）評価資料 4.2.2.2-5

無処置又は胆管カニュ　ーションした雄性ラット（Sprague Dawley 系）に、^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg（それぞれ 27.6 及び 27.8 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄を評価した。無処置及び胆管カニュ　ーションラットにおける累積排泄プロファイルを Figure 6.2-1 及び Figure 6.2-2 に示す。

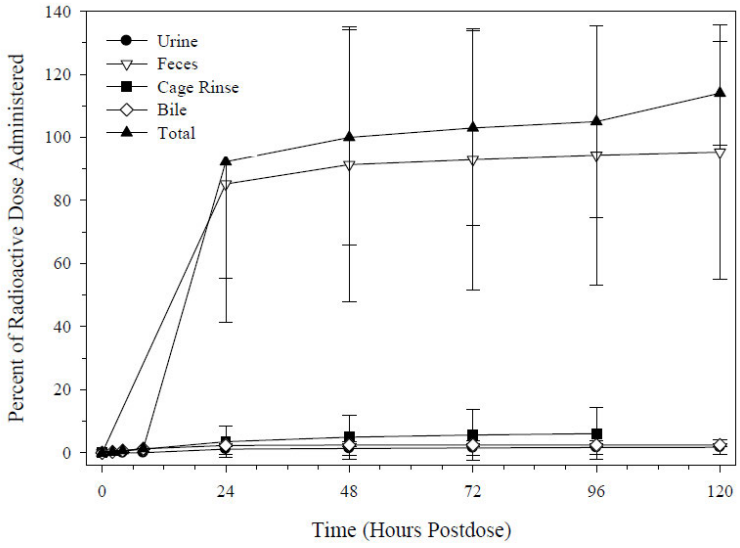
投与した ^{14}C-テナパノル塩酸塩由来の放射能は、両動物において投与後 24 時間以内にその大部分が糞中に排泄された。無処置ラットにおいて、投与後 168 時間までに尿及び糞中に排泄された総放射能は、それぞれ投与量の 0.335%及び 122%であった。また、LC/MS/MS 分析により、糞試料で唯一検出された放射能のピークは未変化のテナパノルに由来することが確認された。胆管カニュ　ーションラットにおいて、投与後 120 時間までに尿、糞及び胆汁中に排泄された総放射能は、それぞれ投与量の 1.78%、95.3%及び 2.51%であった。

Figure 6.2-1 無処置ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿及び糞中への放射能の累積排泄率



平均値±標準偏差、n=3

Figure 6.2-2　胆管カニュレーションラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中への放射能の累積排泄率



平均値±標準偏差、n=3

7　薬物動態学的薬物相互作用

7.1　薬物トランスポーターによる輸送

7.1.1　テナパノル

7.1.1.1　BCRP による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-BCRP Substrate）評価資料 4.2.2.6-1

Caco-2 細胞単層膜を用いて、AP-to-BL 及び BL-to-AP のテナパノルの細胞膜透過性を評価した。また、BCRP 阻害薬としてノボビオシン（30 μmol/L）の影響を評価した。P_{app}、回収率及び efflux ratio を Table 7.1.1.1-1 に示す。

Caco-2 細胞単層膜におけるテナパノルの efflux ratio は、ノボビオシン非存在下及び存在下において、それぞれ 30.8 及び 31.5 より大きく、阻害薬の影響は認められなかった。このことから、テナパノルは BCRP の基質ではないと考えられた。

Table 7.1.1.1-1　Caco-2 細胞単層膜におけるテナパノルの膜透過性

評価条件	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		回収率 (%)		Efflux ratio
	AP-to-BL	BL-to-AP	AP-to-BL	BL-to-AP	
阻害薬なし	<0.0336[a]	1.05 ± 0.0264	<92.7[a]	87.5 ± 4.02	>30.8[a]
ノボビオシン存在下	<0.0346[a]	1.10 ± 0.0287	<94.9[a]	86.5 ± 1.01	>31.5[a]

平均値±標準偏差、n=3
a: 基底膜側のテナパノル濃度が定量下限（20 nmol/L）未満であった。

7.1.1.2 P-gp による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-P-gp Substrate）評価資料 4.2.2.6-2

P-gp を発現させた MDCKII 細胞（MDCKII-MDR1 細胞）単層膜を用いて、AP-to-BL 及び BL-to-AP のテナパノルの細胞膜透過性を評価した。また、P-gp 阻害薬としてゾスキダル（10 μmol/L）の影響を評価した。P_{app}、回収率及び efflux ratio を Table 7.1.1.2-1 に示す。

MDCKII-MDR1 細胞単層膜におけるテナパノルの efflux ratio は、ゾスキダル非存在下及び存在下において、それぞれ 10.7 より大きい及び 1.91 であり、阻害薬による影響が認められた。MDCKII 細胞単層膜におけるテナパノルの efflux ratio は、ゾスキダル非存在下及び存在下において、それぞれ 14.5 及び 2.39 であり、MDCKII-MDR1 細胞単層膜と同様、阻害薬による影響が認められた。P-gp 阻害薬によるテナパノルの efflux ratio の変化は、MDCKII-MDR1 細胞単層膜と MDCKII 細胞単層膜とで同程度であったことから、テナパノルは P-gp の基質ではないと考えられた。

Table 7.1.1.2-1 MDCKII 及び MDCKII-MDR1 細胞単層膜におけるテナパノルの膜透過性

細胞	評価条件	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		回収率 (%)		Efflux ratio
		AP-to-BL	BL-to-AP	AP-to-BL	BL-to-AP	
MDCKII	阻害薬なし	0.0595 ± 0.0225	0.790 ± 0.0199	85.0 ± 4.08	86.1 ± 8.02	14.5 ± 4.73
	ゾスキダル存在下	0.408 ± 0.0214	0.975 ± 0.0297	81.4 ± 5.00	78.4 ± 2.84	2.39 ± 0.0559
MDCKII-MDR1	阻害薬なし	<0.0333[a]	0.384 ± 0.0473	<91.3[a]	87.9 ± 5.10	>10.7[a]
	ゾスキダル存在下	0.381±0.0458	0.728 ± 0.103	91.8 ± 6.64	89.1 ± 5.41	1.91 ± 0.0573

平均値±標準偏差、n=3
a: 基底膜側のテナパノル濃度が定量下限（1 nmol/L）未満であった。

7.1.1.3 OATP1B1 及び OATP1B3 による輸送（ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Substrate）評価資料 4.2.2.6-3

OATP1B1 又は OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いて、テナパノルの細胞内取込みを評価した。また、OATP 阻害薬としてリファンピシン SV（10 μmol/L）の影響を評価した。各種細胞におけるテナパノルの細胞内取込み速度及び細胞内取込み比を Table 7.1.1.3-1 に示す。

OATP1B1 発現細胞及び OATP1B3 発現細胞において、細胞内取込み比は 2 未満であり、阻害薬の影響もなかったことから、テナパノルは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないと考えられた。

Table 7.1.1.3-1 OATP1B1 又は OATP1B3 発現 HEK293 細胞及び HEK293 細胞におけるテナパノルの細胞内取込み速度

細胞	評価条件	細胞内取込み速度 (pmol/mg protein/min)	細胞内取込み比（OATP 非発現細胞対比）
HEK293	阻害薬なし	32.3 ± 2.38	1.09
OATP1B1 発現 HEK293		35.1 ± 4.34	
HEK293	リファンピシン SV 存在下	38.9 ± 3.16	0.934
OATP1B1 発現 HEK293		36.4 ± 4.05	
HEK293	阻害薬なし	22.1 ± 0.982	1.34
OATP1B3 発現 HEK293		29.6 ± 1.78	
HEK293	リファンピシン SV 存在下	29.5 ± 5.28	1.12
OATP1B3 発現 HEK293		33.1 ± 2.89	

平均値±標準偏差、n=3

7.1.2 M1

7.1.2.1 BCRP による輸送（ADME-[redacted]0824-BCRP Substrate）評価資料 4.2.2.6-4

Caco-2 細胞単層膜を用いて、AP-to-BL 及び BL-to-AP の M1 の細胞膜透過性を評価した。また、BCRP 阻害薬としてノボビオシン（30 μmol/L）の影響を評価した。P_{app}、回収率及び efflux ratio を Table 7.1.2.1-1 に示す。

Caco-2 細胞単層膜における M1 の efflux ratio は、ノボビオシン非存在下及び存在下において、それぞれ 0.718 及び 0.703 であり、阻害薬の影響は認められなかった。このことから、M1 は BCRP の基質ではないと考えられた。

Table 7.1.2.1-1 Caco-2 細胞単層膜における M1 の膜透過性

評価条件	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		回収率 (%)		Efflux ratio
	AP-to-BL	BL-to-AP	AP-to-BL	BL-to-AP	
阻害薬なし	14.4 ± 0.696	10.4 ± 0.353	50.8 ± 0.906	62.2 ± 0.928	0.718 ± 0.0444
ノボビオシン存在下	15.5 ± 1.03	10.8 ± 0.0558	54.6 ± 1.94	70.2 ± 1.80	0.703 ± 0.0457

平均値±標準偏差、n=3

7.1.2.2 P-gp による輸送（ADME-[redacted]0824-P-gp Substrate）評価資料 4.2.2.6-5

P-gp を発現させた MDCKII-MDR1 細胞単層膜を用いて、AP-to-BL 及び BL-to-AP の M1 の細胞膜透過性を評価した。また、P-gp 阻害薬としてベラパミル（100 μmol/L）の影響を評価した。P_{app}、回収率及び efflux ratio を Table 7.1.2.2-1 に示す。

MDCKII 細胞単層膜における M1 の efflux ratio は、ベラパミル非存在下及び存在下において、それぞれ 0.931 及び 1.06 であり、阻害薬の影響は認められなかった。MDCKII-MDR1 細胞単層膜における M1 の efflux ratio は、ベラパミル非存在下及び存在下において、それぞれ 2.39 及び 0.615 であり、阻害薬による影響が認められた。このことから、M1 は P-gp の弱い基質であると考えられた。

Table 7.1.2.2-1 MDCKII 及び MDCKII-MDR1 細胞単層膜における M1 の膜透過性

細胞	評価条件	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		回収率 (%)		Efflux ratio
		AP-to-BL	BL-to-AP	AP-to-BL	BL-to-AP	
MDCKII	阻害薬なし	10.1 ± 0.299	9.39 ± 1.04	55.2 ± 1.39	61.5 ± 2.32	0.931 ± 0.0769
	ベラパミル存在下	16.4 ± 1.37	17.2 ± 1.65	74.0 ± 1.36	73.0 ± 2.68	1.06 ± 0.189
MDCKII-MDR1	阻害薬なし	11.0 ± 0.756	26.4 ± 2.27	67.2 ± 3.97	69.8 ± 0.498	2.39 ± 0.105
	ベラパミル存在下	24.1 ± 0.694	14.8 ± 0.617	70.7 ± 1.49	74.1 ± 2.45	0.615 ± 0.0375

平均値±標準偏差、n=3

7.1.2.3 OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K による輸送（ADME-[redacted]0824-SLC Substrate）評価資料 4.2.2.6-6

OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K を発現させた HEK293 細胞を用いて、M1 の細胞内取込みを評価した。また、各トランスポーターの典型的阻害薬（OAT1 及び OAT3：プ

ロベネシド、OCT2：ベラパミル、MATE1 及び MATE2-K：ピリメタミン）の影響を評価した。各種細胞における M1 の細胞内取込み速度及び細胞内取込み比を Table 7.1.2.3-1 に示す。

いずれのトランスポーターを発現した細胞においても、細胞内取込み比が 2 未満であり、典型的阻害薬存在下においても細胞内取込み速度に変化がなかったことから、M1 は OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではないと考えられた。

Table 7.1.2.3-1 OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K 発現 HEK293 細胞及び HEK293 細胞における M1 の細胞内取込み速度

トランスポーター	阻害薬	細胞内取込み速度 (pmol/mg protein/min)		細胞内取込み比（トランスポーター非発現細胞対比）
		HEK293 細胞	トランスポーター発現細胞	
OAT1	プロベネシド	1331 ± 92.1	1493 ± 92.2	1.12
	阻害薬なし	1225 ± 77.5	1326 ± 199	1.08
OAT3	プロベネシド	1215 ± 35.0	1167 ± 27.3	0.960
	阻害薬なし	1201 ± 19.6	1246 ± 15.2	1.04
OCT2	ベラパミル	1308 ± 102	1192 ± 167	0.912
	阻害薬なし	1284 ± 213	1091 ± 56.8	0.849
MATE1	ピリメタミン	1253 ± 108	1177 ± 77.8	0.940
	阻害薬なし	1227 ± 122	1280 ± 94.9	1.04
MATE2-K	ピリメタミン	1253 ± 108	1218 ± 49.0	0.972
	阻害薬なし	1227 ± 122	1216 ± 246	0.991

平均値±標準偏差、n=3

7.2 薬物トランスポーターに対する阻害

7.2.1 テナパノル

7.2.1.1 BCRP に対する阻害作用（[redacted]TRUKP1）評価資料 4.2.2.6-7

BCRP を発現させた MDCK-BCRP 細胞単層膜を用いて、BCRP に対するテナパノルの阻害作用を 1～300 μmol/L の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.1.1-1 に示す。

BCRP によるクラドリビンの輸送に対して、1～300 μmol/L の濃度範囲において阻害率は 20.3%以下であり、明確な濃度依存的な阻害作用はみられなかった。

Table 7.2.1.1-1 BCRP に対するテナパノルの阻害作用

被験物質	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)[a]
テナパノル	0	-
	1	13.9
	3	6.56
	10	3.04
	30	3.91
	100	0
	300	20.3

a: BCRP 阻害薬 Ko143 存在下のクラドリビンの受動輸送を差し引いた補正後の P_{app} を用いて阻害率を算出した。
-: 適応外

7.2.1.2 P-gp に対する阻害作用（Pgp inhib_[redacted]_AZ13667691）評価資料 4.2.2.6-8

P-gp を発現させた MDCKII-MDR1 細胞単層膜を用いて、P-gp に対するテナパノルの阻害作用を 0.3～100 μmol/L の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.1.2-1 に示す。

P-gp による ^{3}H-ジゴキシンの輸送に対して、0.3～100 μmol/L の濃度範囲において阻害率は −157.5%～23.3%であり、明確な濃度依存的な阻害作用はみられなかった。

Table 7.2.1.2-1 P-gp に対するテナパノルの阻害作用

被験物質	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)[a]
テナパノル	0	-
	0.3	23.3
	1	−8.3
	3	−4.2
	10	4.2
	30	−16.7
	100	−157.5

a: P-gp 阻害薬ベラパミル存在下の ^{3}H-ジゴキシンの受動輸送を差し引いた補正後の P_{app} を用いて阻害率を算出した。
-: 適応外

7.2.1.3 OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用（ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Inhibition）評価資料 4.2.2.6-9

OATP1B1 又は OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いて、テナパノルの阻害作用を 0.01～10 μmol/L の濃度範囲で評価した。テナパノルによる OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用を Table 7.2.1.3-1 に示す。

OATP1B1 及び OATP1B3 によるエストラジオール-17β-グルクロニドの輸送に対して、テナパノルは濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 0.658 及び 1.43 μmol/L であった。

Table 7.2.1.3-1 OATP1B1 及び OATP1B3 に対するテナパノルの阻害作用

被験物質	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)[a]	
		OATP1B1	OATP1B3
テナパノル	0	-	-
	0.01	−2.39	−7.65
	0.03	−0.931	−1.87
	0.1	15.2	−10.1
	0.3	20.6	7.61
	1	66.4	10.0
	3	87.6	99.0
	10	95.7	99.8

a: OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬リファンピシン SV 存在下のエストラジオール-17β-グルクロニドの受動輸送を差し引いた細胞内取込み速度を用いて阻害率を算出した。
-: 適応外

7.2.1.4 OATP2B1 及び PEPT1 に対する阻害作用（RDX5791-PK-22）評価資料 4.2.2.6-10

OATP2B1 を発現させた HEK293 細胞又は PEPT1 を発現させた Chinese hamster ovary 細胞を用いて、テナパノルの阻害作用を 0.003～2.5 μmol/L（OATP2B1）又は 0.007～5 μmol/L（PEPT1）の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.1.4-1 に示す。

OATP2B1 によるエストロン-3-硫酸の輸送に対してテナパノルは濃度依存的な阻害作用を示し、その IC_{50} は 0.01 μmol/L であった。PEPT1 によるグリシルサルコシンの輸送に対して、0.007～5 μmol/L の濃度範囲において阻害率は−1%～20%であり、明確な濃度依存的な阻害作用はみられなかった。

Table 7.2.1.4-1 OATP2B1 及び PEPT1 に対するテナパノルの阻害作用

被験物質	OATP2B1		PEPT1	
	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)
テナパノル	0	-	0	-
	0.003	1	0.007	16
	0.010	0	0.021	7
	0.031	15	0.062	6
	0.093	25	0.185	4
	0.278	73	0.556	0
	0.833	90	1.667	20
	2.500	94	5.000	−1

-: 適応外

7.2.2 M1

7.2.2.1 BCRP に対する阻害作用（ADME-[redacted]0413）評価資料 4.2.2.6-11

Caco-2 細胞単層膜を用いて、BCRP に対する M1 の阻害作用を 0.3～100 μmol/L の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.2.1-1 に示す。

BCRP によるロスバスタチンの輸送に対して M1 は濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} は 43.7 μmol/L であった。

Table 7.2.2.1-1 BCRP に対する M1 の阻害作用

被験物質	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)[a]
M1	0	-
	0.3	14.5
	1	19.7
	3	24.2
	10	31.8
	30	35.9
	100	68.2

a: BCRP 阻害薬ノボビオシン存在下のロスバスタチンの受動輸送を差し引いた補正後の P_{app} を用いて阻害率を算出した。
-: 適応外

7.2.2.2 P-gp に対する阻害作用（ADME-[redacted]0412）評価資料 4.2.2.6-12

P-gp を発現させた MDCKII-MDR1 細胞単層膜を用いて、P-gp に対する M1 の阻害作用を 0.3～100 μmol/L の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.2.2-1 に示す。

P-gp によるジゴキシンの輸送に対して M1 は濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} は 80.7 μmol/L であった。

Table 7.2.2.2-1 P-gp に対する M1 の阻害作用

被験物質	被験物質濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)[a]
M1	0	-
	0.3	6.00
	1	10.0
	3	10.0
	10	23.2
	30	35.3
	100	54.0

a: P-gp 阻害薬ベラパミル存在下のジゴキシンの受動輸送を差し引いた補正後の P_{app} を用いて阻害率を算出した。
-: 適応外

7.2.2.3 OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用（[redacted]TRUKP1S4）評価資料 4.2.2.6-13、（ADME-[redacted]0415）評価資料 4.2.2.6-14

各種トランスポーターを発現させた HEK293 細胞を用いて、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する M1 の阻害作用を 0.3～100 μmol/L の濃度範囲で評価した。阻害率を Table 7.2.2.3-1 に示す。

M1 は OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K に対して濃度依存的な阻害作用を示し、その IC_{50} はそれぞれ 23.6、46.7、16.9 及び 21.9 μmol/L であった。M1 は OAT1 に対して濃度依存的な阻害作用を示したが、最大評価濃度の 100 μmol/L における阻害率が 50%未満であったため、IC_{50} は 100 μmol/L より高値であると考えられた。OAT3 に対しては 0.3～100 μmol/L の濃度範囲において阻害率が−30.1%～7.38%であり、明確な濃度依存的な阻害作用はみられなかった。OCT2 については 2 回の評価（バッチ 1 及びバッチ 2）を実施し、M1 の低濃度域（バッチ 1 の 1～30 μmol/L 及びバッチ 2 の 1～10 μmol/L）においては OCT2 の基質輸送活性に上昇傾向が認められ、M1 の高濃度域（バッチ 1 の 100 μmol/L 及びバッチ 2 の 30～100 μmol/L）においては阻害傾向が認められたが、IC_{50} を算出できなかった。

Table 7.2.2.3-1 OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する M1 の阻害作用

トランスポーター	OATP1B1[a]	OATP1B3[b]	OAT1[b]	OAT3[b]	OCT2[b, c]	MATE1[b]	MATE2-K[b]
基質	エストラジオール-17β-グルクロニド	アトロバスタチン	パラアミノ馬尿酸	フロセミド	メトホルミン		
M1 濃度 (μmol/L)	阻害率 (%)						
0	-	-	-	-	-	-	-
0.3	0.737	−6.26	13.5	−29.1	3.01/−0.336	7.34	−7.48
1	1.16	5.12	10.9	−28.3	−1.58/−15.0	8.19	−8.97
3	6.84	9.36	10.8	−25.4	−26.5/−40.8	8.66	−3.24
10	27.9	31.7	15.6	−21.8	−28.5/−26.3	35.2	18.3
30	53.0	33.7	19.8	−30.1	−9.73/14.8	69.9	59.0
100	91.1	62.8	38.3	7.38	71.8/74.0	97.9	95.7

a: 試験報告書番号 ADME-[redacted]0415 参照
b: 試験報告書番号[redacted]TRUKP1S4 参照
c: OCT2 については 2 回の評価での阻害率を示した（バッチ 1 の阻害率/バッチ 2 の阻害率）。
-: 適応外

7.3 その他の薬物相互作用試験

7.3.1 テナパノルとリン吸着薬との相互作用（in vitro）（RDX5791-PK-011.00）参考資料 4.2.2.6-15、（d-[redacted]-0161）評価資料 4.2.2.6-16

人工腸液（pH 6.5）中におけるテナパノルの各種リン吸着薬との結合率を 1～200 μmol/L の濃度範囲で評価した。テナパノルの炭酸セベラマー（1.6 又は 3.2 mg/mL）への結合率は 71%～87%であった。ポリスチレンスルホン酸ナトリウム（10 mg/mL）への結合率は 26%～32%であった。炭酸カルシウム（2.4 mg/mL）及び酢酸カルシウム（1 mg/mL）へは、ほとんど結合しなかった（RDX5791-PK-011.00）。

また、人工胃腸液において、本邦で承認されているリン吸着薬である炭酸セベラマー（1.58 mg/mL）、クエン酸第二鉄水和物（1.37 mg/mL）、セベラマー塩酸塩（1.98 mg/mL）、スクロオキシ水酸化鉄（0.681 mg/mL）、ビキサロマー（1.97 mg/mL）及び炭酸ランタン水和物（0.515 mg/mL）へのテナパノル（テナパノル塩酸塩としての添加濃度：1 μg/mL）の結合を評価した。リン吸着薬との結合率はそれぞれ 37.9%、42.3%、50.3%、8.61%、4.46%及び 4.16%であった（d-[redacted]-0161）。

8 その他の薬物動態試験

8.1 ラットにおけるエナラプリルの薬物動態に対するテナパノルの影響（RDX5791-PK-012.00）参考資料 4.2.2.7-1

高食塩食負荷腎不全ラット（Sprague Dawley 系）でのエナラプリルとの併用投与による薬理試験に関連し、エナラプリルの血漿中曝露に及ぼすテナパノルの影響について評価した。正常ラット（Sprague Dawley 系）又は腎不全ラットにエナラプリル（10 mg/kg）とテナパノル塩酸塩（1 mg/kg）を同時に併用投与したときのエナラプリルの活性代謝物エナラプリラトの AUC_{0-t} は、エナラプリル（10 mg/kg）を単独経口投与したときのエナラプリラトの AUC_{0-t} と比較して約 50%減少した。

9 考察及び結論

テナパノル塩酸塩をラット又はイヌに 1 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、ほとんどの時点において血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）は定量下限（0.500 ng/mL）未満であり、テナパノルのバイオアベイラビリティは非常に低いことが示された。M1 を雄性マウス及び雌雄ラットに、それぞれ単回経口投与（100 及び 300 mg/kg）及び反復経口投与（5 及び 30 mg/kg）したとき、M1 は速やかに吸収され、曝露量は用量の増加に伴って上昇した。雌雄のマウス及びラットを用いたテナパノル塩酸塩の 28 日間反復投与試験において、それぞれ 10～200 mg/kg 及び 30～1000 mg/kg の用量で反復経口投与したとき、テナパノルの曝露量は用量の増加に伴って上昇する傾向にあった。また、反復経口投与後のテナパノルの曝露量はマウス及びラットにおいて、雄に比べて雌の方が高く、両性において初回投与時に比べて反復投与後の方が高い傾向にあった。テナパノル塩酸塩を雌雄イヌに 1000 mg/kg の用量で反復経口投与したとき、4 及び 38 週目の M1 の曝露量は同程度であり、雌雄間の曝露量に明らかな差は認められなかった。

テナパノルの in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、100 μmol/L の濃度において、マウスでは 0.00100%未満、ラットでは 0.00701%、ウサギでは 0.00748%、イヌでは 0.00313%、ヒトで

は 0.00300%であり、評価したいずれの種においても血漿中蛋白への高い結合性を示した。M1 の in vitro における血漿蛋白非結合型分率は、0.01～10 μmol/L の濃度範囲において、マウスでは 2.42%～4.52%、ラットでは 1.96%～2.91%、ウサギでは 4.46%～5.03%、イヌでは 4.93%～5.58%、ヒトでは 3.20%～3.43%であり、いずれの種においても濃度依存性は観察されなかった。M1 のヒト R_b は 0.03～3 μmol/L の濃度範囲において 5.13～5.87 であり、明らかな濃度依存性は観察されなかった。ラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を単回経口投与したとき、消化管の内容物で高い放射能が検出され、ほとんどの組織では定量下限未満であり、組織分布は限定的であった。放射能が検出された組織としては胃腸管組織（食道、胃、小腸、盲腸及び大腸）、肝臓、腎臓、肺、脾臓及び尿であった。また、有色ラットでは上記の組織等の他にブドウ膜及び副腎でも放射能が検出された。有色ラット及びアルビノラットにおいて、それぞれ投与後 168 及び 48 時間までにすべての組織で放射能は定量下限未満となった。テナパノル塩酸塩（0.5 mg/kg）をラットに単回経口投与したとき、投与後 12 時間まで、小腸の遠心上清中のテナパノル濃度は in vitro の NHE3 に対する IC_{50} に比べて高く、テナパノルは経口投与後の数時間にわたり、標的部位である消化管管腔に存在することが示唆された。

人工胃液及び人工腸液中におけるテナパノルの安定性は高かった。テナパノルをラット、イヌ及びヒト肝ミクロソーム中で反応させたとき、NADPH 存在下でいずれの種においても代謝され、ヒトで認められた代謝物はラット及びイヌ肝ミクロソームの両方、又はラット肝ミクロソームで観察された。健康成人に ^{14}C-KHK7791 を経口投与したときの血漿、尿又は糞をプールした試料において、9 種類の代謝物が検出された。血漿には 5 種類の代謝物（M1、M2、M11、M12 及び M15）が検出され、M1 は血漿中総放射能の 16%を占めたが、その他の代謝物はいずれも 10%未満だった。生成した代謝物はいずれも酸化的 N-又は O-脱アルキル化体と考えられた。ヒトの血漿中主代謝物である M1 は、マウス、ラット及びイヌのテナパノル塩酸塩反復投与試験のプール血漿試料において検出され、ヒト臨床用量でのプール血漿中の M1 濃度と比べて、それぞれ 0.57～2.66 倍、0.13～0.15 倍、0.13～0.33 倍及び 1.62 倍であった。テナパノルはヒト肝及び小腸ミクロソーム中で速やかに代謝された。また、門脈カニュー を挿入したイヌにテナパノル塩酸塩を単回経口投与したとき、門脈中に M1 が検出され、テナパノルの曝露量は頸静脈中に比べて門脈中で高値であった。これらのことから、テナパノルが肝臓及び小腸で代謝される可能性が示唆された。その代謝過程には NADPH 依存性の第 I 相反応が関与すると考えられ、リコンビナント CYP を用いた検討から CYP3A4 及び CYP3A5 の寄与が最も大きく、その寄与率はそれぞれ 56.8%及び 39.8%であった。その他の CYP 分子種として、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 においてもテナパノルの代謝が観察され、その寄与率は 0.0113%～2.19%であった。CYP2E1 においてはテナパノルの代謝は観察されなかった。また、ヒト肝ミクロソームを用いてテナパノルの代謝に対する FMO の寄与を評価した結果、その寄与は低いと考えられた。これらの結果に加え、主代謝物である M1 の生成には CYP3A が関与することから、テナパノルの主代謝酵素は CYP3A であると考えられた。

テナパノル及び M1 の CYP を介した薬物相互作用の可能性について in vitro 試験で評価した。HepaRG 細胞を用いた検討において、テナパノルは 0.0001～20 μmol/L の濃度範囲において CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を示さなかった。また、ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、テナパノルは CYP1A2 に対して可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 15.4、10.4、14.2、>30、3.26 及び 0.402～0.68 μmol/L であった。また、い

ずれの CYP 分子種に対してもテナパノルは時間依存的阻害作用を示さなかった。ヒト凍結肝細胞を用いた検討から、M1 は 0.03～10 μmol/L の濃度範囲において、CYP1A2 に対する誘導作用を示さなかったが、CYP2B6 については 3 ロット中 1 ロットにおいて、CYP3A4 については 3 ロット中 2 ロットにおいて誘導作用を示した。ヒト肝ミクロソームを用いた検討において、M1 は 30 μmol/L の濃度まで CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 に対して可逆的阻害作用を示さなかったが、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して可逆的阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ>30、>30、1.95 及び 0.083～0.110 μmol/L であった。また、M1 は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して時間依存的阻害作用を示さなかった。

無処置及び胆管カニュ ーションしたラットに ^{14}C-テナパノル塩酸塩を経口投与したとき、いずれのラットにおいても投与後 24 時間までに投与した放射能の大部分が未変化体として糞中に排泄された。胆管カニュレーションの有無によらず主な排泄経路は糞中であり、尿及び胆汁への排泄はわずかであった。ヒトマスバランス試験におけるテナパノルの主消失経路は糞中であり（2.7.2-2.2.3 項）、テナパノルの排泄経路はヒトとラットで類似していた。

テナパノル及び M1 について、薬物トランスポーターによる輸送及び薬物トランスポーターの代表的基質の輸送に対する阻害作用を、薬物トランスポーター発現細胞を用いて評価した。テナパノルは P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。M1 は BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではなかったが、P-gp の弱い基質と考えられた。

テナパノルは P-gp 及び BCRP に対してはそれぞれ 100 及び 300 μmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかったが、OATP1B1 及び OATP1B3 に対しては濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 0.658 及び 1.43 μmol/L であった。テナパノルは OATP2B1 に対して濃度依存的な阻害作用を示し、IC_{50} は 0.01 μmol/L であった。PEPT1 に対しては 5 μmol/L の濃度まで明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかった。M1 は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、MATE1 及び MATE2-K を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 80.7、43.7、23.6、46.7、>100、16.9 及び 21.9 μmol/L であった。M1 は OAT3 及び OCT2 に対しては、0.3～100 μmol/L の濃度範囲において、明確な濃度依存的な阻害作用を示さなかった。テナパノルと本邦で承認されているリン吸着薬の相互作用を in vitro で評価したところ、炭酸セベラマー、クエン酸第二鉄水和物、セベラマー塩酸塩、スクロオキシ水酸化鉄、ビキサロマー及び炭酸ランタン水和物へのテナパノルの結合率はそれぞれ 37.9%、42.3%、50.3%、8.61%、4.46%及び 4.16%であった。

テナパノル及び M1 について、本邦の薬物相互作用ガイドライン（平成 30 年 7 月 23 日薬生薬審発 0723 第 6 号「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」）を参照し、上述の各 in vitro 試験の結果に基づき、CYP 又は薬物トランスポーターを介した薬物相互作用の可能性及び臨床薬物相互作用試験の実施判断を行った（2.7.2-1.2.1 項）。また、テナパノルと併用される可能性のある薬剤又はリン吸着薬との薬物相互作用について、臨床薬物相互作用試験の実施判断を行った（2.7.2-1.2.1.6 項）。

以上をまとめると、テナパノルは細胞膜透過性が非常に低く、経口投与したうちの大部分が吸収されず消化管内に高濃度で存在すると考えられた。また、テナパノルの消化管内での安定性は高く、投与したうちの大部分が未変化体として糞中に排泄された。体内に一部吸収されたテナパノルは、小腸及び肝臓に発現する CYP3A により、不活性代謝物である M1 等の代謝物に速やかに代謝されることで、全身曝露が非常に低いという薬物動態特性を示すと考えられた。

KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5　薬物動態試験概要表

協和キリン株式会社

目次

略号及び用語の定義一覧 3
2.6.5 薬物動態試験概要表 5
1 薬物動態試験：一覧表 5
2 分析方法及びバリデーション試験 12
2.1 分析方法及びバリデーション試験 12
2.2 保存安定性 16
3 薬物動態試験：吸収 17
4 薬物動態試験：分布 30
5 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 43
6 薬物動態試験：その他の分布試験 44
7 薬物動態試験：代謝 45
8 薬物動態試験：ヒトにおける推定代謝経路 66
9 薬物動態試験：排泄 67
10 薬物動態試験：排泄−胆汁中− 70
11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用 71
12 薬物動態試験：その他の薬物動態試験 93

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
ABT	1-aminobenzotriazole（1-アミノベンゾトリアゾール）
AP	Apical membrane（頂端膜）
BCRP	Breast cancer resistance protein（乳癌耐性タンパク質）
BL	Basolateral membrane（基底膜）
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
CITCO	6-(4-chlorophenyl)imidazo [2,1-b][1,3]thiazole-5-carbaldehyde-O-(3,4-dichlorobenzyl)oxime（6-(4-クロロフェニル)イミダゾ[2,1-b] [1,3]チアゾール-5-カルボアルデヒド O-(3,4-ジクロロベンジル)オキシム）
CL_{int}	Intrinsic clearance（固有クリアランス）
CYP	Cytochrome P450（チトクローム P450）
CV	Coefficient of variation（変動係数）
DEV	Deviation（偏差）
DMSO	Dimethyl sulfoxide（ジメチルスルホキシド）
E_{max}	Maximal calculated induction （誘導の最大値）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
FMO	Flavin-containing monooxygenase（フラビン含有モノオキシゲナーゼ）
HCl	Hydrochloride（塩酸塩）
HEK293	Human embryonic kidney 293 cells（ヒト胎児由来腎臓 293 細胞）
HPLC	High-performance liquid chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
IC_{50}	50% inhibit concentration（50%阻害濃度）
LSC	Liquid scintillation counter（液体シンチ　ーションカウンター）
MATE	Multidrug and toxic compound extrusion（多剤毒素排出）
MDCK	Madin-Darby canine kidney cells（イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株）
MDR1	Multidrug resistance protein 1（P-糖タンパク質）
NA	Not applicable（適応外）
NADPH	Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸）
NC	Not calculated/Not calculable（算出不能）
ND	Not detected（検出不能）
NHE3	Na^+/H^+ exchanger isoform 3（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体 3）
OAT	Organic anion transporter（有機アニオン輸送体）
OATP	Organic anion transporting polypeptide（有機アニオン輸送ポリペプチド）
OCT	Organic cation transporter（有機カチオン輸送体）
P_{app}	Apparent permeability（見かけの膜透過係数）
PEPT1	Peptide transporter 1（ペプチドトランスポーター1）
P-gp	P-glycoprotein（P-糖タンパク質）
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography（定量的全身オートラジオグラフィー）
R_b	Blood to plasma partition ratio（血液−血漿分配比）
RE	Relative error（相対誤差）
RSD	Relative standard deviation （相対標準誤差）
SD	Standard deviation（標準偏差）
UPLC	Ultra-performance liquid chromatography（超高速液体クロマトグラフィー）

用語の定義

用語	定義
AUC	血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-24}	投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-t}	投与後 t 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	無限大時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
BLQ	定量下限未満
Caco-2	ヒト結腸癌由来細胞株
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HepaRG	ヒト肝腫瘍由来細胞株
KHK7791	テナパノル塩酸塩、開発番号
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	定量下限
M1	KHK7791 代謝物
mRNA	メッセンジャー　ボ核酸
$t_{1/2}$	消失半減期
t_{max}	最高血漿中薬物濃度到達時間

2.6.5 薬物動態試験概要表

1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
分析方法及びバリデーショ	試験					
分析方法バリデーション試験	Tenapanor hydrochloride	マウス血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-042.00	参考 4.2.2.1-1
	Tenapanor hydrochloride	マウス血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-011.00[a]	4.2.2.1-2
	Tenapanor hydrochloride	マウス血漿	NA	[redacted]	318961[a]	4.2.2.1-3
	Tenapanor 及び M1	マウス血漿	NA	[redacted]	[redacted]-775042[a]	4.2.2.1-4
	M1	マウス血漿	NA	[redacted]	321885[a]	4.2.2.1-5
	Tenapanor hydrochloride	ラット血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-036.00	参考 4.2.2.1-6
	Tenapanor hydrochloride	ラット血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-002.00[a]	4.2.2.1-7
	Tenapanor 及び M1	ラット血漿	NA	[redacted]	[redacted]-775046[a]	4.2.2.1-8
	Tenapanor hydrochloride	ウサギ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-043.00	参考 4.2.2.1-9
	Tenapanor hydrochloride	ウサギ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-014.00[a]	4.2.2.1-10
	Tenapanor hydrochloride 及び M1	ウサギ血漿	NA	[redacted]	321890[a]	4.2.2.1-11

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
分析方法バリデーション試験（続き）	Tenapanor hydrochloride	イヌ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-035.00	参考 4.2.2.1-12
	Tenapanor hydrochloride	イヌ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-003.00[a]	4.2.2.1-13
	Tenapanor hydrochloride	イヌ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-004.00[a]	4.2.2.1-14
	M1	イヌ血漿	NA	[redacted]	321864[a]	4.2.2.1-15
保存安定性	Tenapanor hydrochloride	マウス血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-028.00[a]	4.2.2.1-16
	Tenapanor hydrochloride	ラット血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-032.00[a]	4.2.2.1-17
	Tenapanor hydrochloride	ウサギ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-014.00[a]	4.2.2.1-10
	Tenapanor hydrochloride	イヌ血漿	NA	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]-031.00[a]	4.2.2.1-18
	Tenapanor 及び M1	マウス血漿	NA	[redacted]	[redacted]-775042[a]	4.2.2.1-4
	Tenapanor 及び M1	ラット血漿	NA	[redacted]	[redacted]-775046[a]	4.2.2.1-8
	Tenapanor hydrochloride 及び M1	ウサギ血漿	NA	[redacted]	321890[a]	4.2.2.1-11
	M1	イヌ血漿	NA	[redacted]	322187[a]	4.2.2.1-19
吸収						
細胞膜透過性	Tenapanor	MDCK 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-09.00	参考 4.2.2.2-1
血漿中濃度	M1	マウス	経口	[redacted]	RDX5791-M1-02	参考 4.2.2.2-2
	Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-TX-09[a, b]	4.2.3.2-2

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
血漿中濃度（続き）	Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]	RDX5791-PK-03	参考 4.2.2.2-3
	Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-PK-04[b]	参考 4.2.2.2-4
	^{14}C-Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-PK-10.00	4.2.2.2-5
	Tenapanor hydrochloride 及び M1		経口	[redacted]	RDX5791-M1-05	参考 4.2.2.2-6
	Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-TX-5[a, b]	4.2.3.2-6
	Tenapanor hydrochloride	イヌ	経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-PK-05[b]	参考 4.2.2.2-7
	Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-PK-13	4.2.2.2-8
	Tenapanor hydrochloride		経口	[redacted]	322009[a]	4.2.2.2-9
分布						
組織中濃度、QWBA	^{14}C-Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]（旧 [redacted]）	RDX5791-PK-10.00	4.2.2.2-5
in vitro 蛋白結合	Tenapanor hydrochloride	ラット、イヌ及びヒト血漿	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-07, Rev. 2	参考 4.2.2.3-1
in vitro 蛋白結合	Tenapanor	マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0110	4.2.2.3-2
in vitro 蛋白結合	M1	マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0318	4.2.2.3-3
in vitro 血球移行性	M1	ヒト血液	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0331	参考 4.2.2.3-4
in vitro 血球移行性	M1	ヒト血液	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0704-BP	4.2.2.3-5

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
消化管内動態	Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]	RDX5791-PK-08.00	参考 4.2.2.3-6
代謝						
in vitro 人工胃腸液中安定性	Tenapanor	人工胃腸液	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-01	参考 4.2.2.4-1
in vitro 代謝プロファイル	Tenapanor	ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-06	参考 4.2.2.4-2
in vivo 代謝物プロファイル	^{14}C-KHK7791 及び KHK7791	ヒト血漿、尿及び糞	経口	[redacted]	[redacted]381-38	5.3.3.1-3
代謝物の血漿中曝露比較	Tenapanor hydrochloride 及び KHK7791	マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿	経口	[redacted]	[redacted]381-39	4.2.2.4-3
代謝に関与する CYP 分子種	Tenapanor	遺伝子組換えヒト CYP 分子種発現系	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted] (CYP Isoform ID)-[redacted]0527	4.2.2.4-4
代謝における FMO の関与	Tenapanor hydrochloride	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-15	参考 4.2.2.4-5
in vitro 代謝	Tenapanor hydrochloride	ヒト肝及び小腸ミクロソーム	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-14	参考 4.2.2.4-6
in vitro 代謝	Tenapanor	アロクロール-1254 誘導ラット肝 S9 画分	in vitro	[redacted]	[redacted]381-43	参考 4.2.2.4-7
in vitro 代謝	M1	マウス、ラット及びヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	RDX5791-M1-08	参考 4.2.2.4-8
CYP 誘導（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4）	Tenapanor	HepaRG 細胞	in vitro	[redacted]	00017/0022/0024/0025 CYP_IND_HepaRG_AZ13667691	参考 4.2.2.4-9
CYP 阻害（CYP2B6、CYP2C8 及び CYP3A）	Tenapanor	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	00008CYP_INH_LCMS_2_AZ13667691	4.2.2.4-10

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
CYP 阻害（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A）	Tenapanor	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0110	4.2.2.4-11
CYP 時間依存的阻害（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A）	Tenapanor hydrochloride	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]1206-CYP TDI	4.2.2.4-12
CYP 誘導（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4）	M1	ヒト凍結肝細胞	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0704-CYP Induction	4.2.2.4-13
CYP 阻害（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A）	M1	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0323	4.2.2.4-14
CYP 阻害（CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2E1、CYP3A）	M1	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0417	4.2.2.4-15
CYP 時間依存的阻害（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A）	M1	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]1207-CYP TDI	4.2.2.4-16
排泄						
糞中排泄	Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]	RDX5791-PK-02	参考 4.2.2.5-1
尿糞胆汁中排泄	^{14}C-Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]（旧[redacted]）	RDX5791-PK-10.00	4.2.2.2-5

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
薬物動態学的薬物相互作用						
BCRP による輸送	Tenapanor hydrochloride	Caco-2 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0825-BCRP Substrate	4.2.2.6-1
P-gp による輸送	Tenapanor hydrochloride	MDR1 発現 MDCKII 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0825-P-gp Substrate	4.2.2.6-2
OATP1B1 及び OATP1B3 による輸送	Tenapanor hydrochloride	OATP1B1 又は OATP1B3 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Substrate	4.2.2.6-3
BCRP による輸送	M1	Caco-2 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0824-BCRP Substrate	4.2.2.6-4
P-gp による輸送	M1	MDR1 発現 MDCKII 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0824-P-gp Substrate	4.2.2.6-5
OAT1 、 OAT3 、 OCT2 、 MATE1 及び MATE2-K による輸送	M1	OAT1 、 OAT3 、 OCT2 、 MATE1 又は MATE2-K 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0824-SLC Substrate	4.2.2.6-6
BCRP 阻害	Tenapanor hydrochloride	BCRP 発現 MDCK 細胞単層膜	in vitro	[redacted]（旧[redacted]）	[redacted]TRUKP1	4.2.2.6-7
P-gp 阻害	Tenapanor	MDR1 発現 MDCKII 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	Pgp inhib_[redacted]_AZ13667691	4.2.2.6-8
OATP1B1 及び OATP1B3 阻害	Tenapanor hydrochloride	OATP1B1 又は OATP1B3 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Inhibition	4.2.2.6-9
PEPT1 及び OATP2B1 阻害	Tenapanor hydrochloride	PEPT1 発現 CHO 細胞又は OATP2B1 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-22	4.2.2.6-10
BCRP 阻害	M1	Caco-2 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0413	4.2.2.6-11
P-gp 阻害	M1	MDR1 発現 MDCKII 細胞単層膜	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0412	4.2.2.6-12

Table continues

被験物質：Tenapanor、Tenapanor hydrochloride、^{14}C-Tenapanor hydrochloride、M1（続き）						
試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	実施施設	試験報告書番号	資料番号
OATP1B3 、 OATl 、 OAT3 、 MATEl 、 MATE2-K 及び OCT2 阻害	M1	OATP1B3 、 OATl 、 OAT3 、 MATEl 、 MATE2-K 又は OCT2 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]（旧 [redacted]）	[redacted]TRUKP1S4	4.2.2.6-13
OATP1B1 阻害	M1	OATP1B1 発現 HEK293 細胞	in vitro	[redacted]	ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0415	4.2.2.6-14
リン吸着薬との相互作用	Tenapanor hydrochloride	人工腸液	in vitro	[redacted]	RDX5791-PK-011.00	参考 4.2.2.6-15
	Tenapanor hydrochloride	人工胃腸液	in vitro	協和キリン	d-[redacted]-0161	4.2.2.6-16
その他の薬物動態試験						
エナラプリルとの相互作用	Tenapanor hydrochloride	ラット	経口	[redacted]	RDX5791-PK-012.00	参考 4.2.2.7-1

a：GLP に適合した報告書

b：当該試験において、血漿中濃度測定（テナパノル塩酸塩として算出）に使用した標準物質の純度について、試験結果報告時に使用した分析値は分析法が確立されていない初期の分析結果（96.3%）であり、試験終了後に追加分析に基づき純度が更新された（86.8%）。純度の更新に伴い、真の血漿中薬物濃度は、テナパノル塩酸塩換算で、報告値の 1.1 倍となる。報告値と真の薬物濃度の乖離（10%）は、本邦の「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」（薬食審査発 0711 第 1 号平成 25 年 7 月 11 日）で定められている真度の許容基準（理論値の±15%以内）であり、薬物濃度から算出される全身曝露や本剤の薬物動態及び安全性プロファイルの解釈に与える影響は顕著でない。

2 分析方法及びバリデーション試験

2.1 分析方法及びバリデーション試験

Test Article: Tenapanor, Tenapanor hydrochloride, M1							
Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision/Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study No.
Mouse/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Method Development	No	[redacted]-042.00
Rat/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS		No	[redacted]-036.00
Rabbit/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS		No	[redacted]-043.00
Dog/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS		No	[redacted]-035.00
Mouse/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Interday Precision: 5.41 to 8.26%CV Interday Accuracy: −0.500 to 5.33%DEV Intraday Precision: 1.24 to 12.0%CV Intraday Accuracy: −7.50 to 10.7%DEV	Yes	[redacted]-011.00
Mouse/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Precision: 2.48 to 4.79%CV Accuracy: 0.750 to 12.0%DEV	Yes	[redacted]-028.00
Mouse/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Within Batch Precision: 2.2 to 19.7%CV Within Batch Accuracy: −12.8 to 18.8%Bias Between Batch Precision: 3.9 to 18.2%CV Between Batch Accuracy: −4.0 to 11.0%Bias	Yes	318961

Table continues

Test Article: Tenapanor, Tenapanor hydrochloride, M1 (Continued)							
Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision/Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study No.
Mouse/Plasma	Tenapanor and M1	0.500 to 250	Bioanalytical	LC/MS/MS	QC Intra-Batch Precision Range (%RSD) 1.5 to 15.2 for Tenapanor 1.2 to 16.7 for M1 QC Intra-Batch Accuracy Range (%RE) −9.0 to 4.7 for Tenapanor −18.2 to 12.2 for M1 QC Inter-Batch Precision Range (%RSD) 2.9 to 12.8 for Tenapanor 4.1 to 19.1 for M1 QC Inter-Batch Accuracy Range (%RE) −3.2 to 1.3 for Tenapanor −5.3 to −0.5 for M1	Yes	[redacted]-775042
Mouse/Plasma	M1	1.00 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Within Batch Precision: 1.8 to 16.7%CV Within Batch Accuracy: −9.6 to 14.0%Bias Between Batch Precision: 6.1 to 15.7%CV Between Batch Accuracy: 1.0 to 3.7%Bias	Yes	321885
Rat/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Interday Precision: 3.18 to 7.09%CV Interday Accuracy: −0.500 to 4.67%DEV Intraday Precision: 1.60 to 7.59%CV Intraday Accuracy: −7.50 to 14.7%DEV	Yes	[redacted]-002.00
	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Precision: 2.85 to 4.16%CV Accuracy: −0.250 to 8.00%DEV	Yes	[redacted]-032.00

Table continues

Test Article: Tenapanor, Tenapanor hydrochloride, M1 (Continued)							
Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision/Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study No.
Rat/Plasma (Continued)	Tenapanor and M1	0.500 to 250	Bioanalytical	LC/MS/MS	QC Intra-Batch Precision Range (%RSD) 1.1 to 16.2 for Tenapanor 0.3 to 11.8 for M1 QC Intra-Batch Accuracy Range (%RE) −13.0 to 14.2 for Tenapanor −12.4 to 4.8 for M1 QC Inter-Batch Precision Range (%RSD) 3.1 to 14.6 for Tenapanor 2.8 to 10.1 for M1 QC Inter-Batch Accuracy Range (%RE) −4.6 to 1.1 for Tenapanor −5.0 to 2.0 for M1	Yes	[redacted]-775046
Rabbit/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Intraday Precision: 4.12 to 8.73%CV Intraday Accuracy: −1.50 to 10.0%DEV Interday Precision: 6.04 to 7.33%CV Interday Accuracy: 1.50 to 5.33%DEV	Yes	[redacted]-014.00
	Tenapanor and M1	0.500 to 100	Bioanalytical	LC/MS/MS	Within Batch Precision (%CV): 1.3 to 6.7 for Tenapanor 2.5 to 10.3 for M1 Within Batch Accuracy (%Bias): −6.3 to 4.0 for Tenapanor −13.2 to 9.4 for M1 Between Batch Precision (%CV): 3.7 to 5.5 for Tenapanor 4.9 to 11.3 for M1 Between Batch Accuracy (%Bias): −1.6 to 0.0 for Tenapanor −6.9 to −3.4 for M1	Yes	321890

Table continues

Test Article: Tenapanor, Tenapanor hydrochloride, M1 (Continued)							
Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision/Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study No.
Dog/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Intraday Precision:2.41 to 3.10%CV Intraday Accuracy: 1.50 to 6.50%DEV LLOQ Precision: 11.5%CV LLOQ Accuracy: 9.60%DEV	Yes	[redacted]-003.00
Dog/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Intraday Precision: 1.43 to 6.37%CV Intraday Accuracy: −5.50 to 4.67%DEV Interday Precision: 2.79 to 5.81%CV Interday Accuracy: −1.00 to 3.00%DEV	Yes	[redacted]-004.00
Dog/Plasma	Tenapanor	0.500 to 500	Bioanalytical	LC/MS/MS	Precision: 2.25 to 3.20%CV Accuracy: −4.75 to 2.67%DEV	Yes	[redacted]-031.00
Dog/Plasma	M1	0.500 to 100	Bioanalytical	LC/MS/MS	Within Batch Precision: 1.5 to 7.4%CV Within Batch Accuracy: −13.8 to 7.3%Bias Between Batch Precision: 5.8 to 8.3%CV Between Batch Accuracy: −5.1 to −0.2%Bias	Yes	321864
Dog/Plasma	M1	0.500 to 100	Bioanalytical	LC/MS/MS	Between Batch Precision: 6.7 to 11.7%CV Between Batch Accuracy: 4.9 to 11.0%Bias	Yes	322187

2.2 保存安定性

Test Article: Tenapanor, Tenapanor hydrochloride, M1								
Analyte	Tenapanor				Tenapanor and M1			M1
Study No.	[redacted]-028.00	[redacted]-032.00	[redacted]-014.00	[redacted]-031.00	[redacted]-775042	[redacted]-775046	321890	322187
GLP Compliance	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Species	Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Mouse	Rat	Rabbit	Dog
Matrix	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Storage Stability at °C	−70	−70	−70	−70	−70	−70	−80	−80
Stability	65 days	160 days	34 days	161 days	76 days	116 days	28 days	24 months

3 薬物動態試験：吸収

Study Title: Permeability of RDX5791 Across Cell Monolayers		Test Article: Tenapanor (RDX5791)
GLP Compliance: No		Study No.: RDX5791-PK-09.00
Type of Study:	Permeability Across Cell Monolayers	

Method: The permeability assay was performed using a well-characterized subclone of polarized MDCK cells. Cells were plated on 24-Transwell plates and grown for an additional 72-96 hours prior to assay initiation. On the day of the assay, media was removed from the cells and the cells were washed and pre-incubated with transport buffer (10 mmol/L HEPES in HBSS, pH 7.4 or 10 mmol/L MES in HBSS, pH 6.5). After the pre-incubation period, test compounds or control compounds (labetalol, propranolol, atenolol, and colchicine) were added to 10 µmol/L in transport buffer containing 100 µmol/L Lucifer Yellow (LY) and placed onto the cell monolayer. LY is a passively transported fluorescent molecule used as a control to assess cell monolayer integrity in each individual well. After sampling from the donor chamber at t=0 (initial concentration of compound) and 30 min (compound concentration at equilibrium), cells were incubated at 37°C with the compound solution on the apical or basolateral side of the monolayer for 60 min. Apical and basolateral samples were taken after 60 min. All samples were quantitatively analyzed by LC/MS/MS to determine compound levels in the various samples. LY levels were measured using fluorescence spectrometry at the end of the assay. Any well in which the P_{app} for LY was $>1.5 \times 10^{-6}$ cm/s were omitted from analyses.

Additional Comments: The benchmark compounds atenolol (low P_{app}), propranolol (high P_{app}), labetalol (moderate P_{app}), and colchicine (low P_{app}, strong efflux substrate) exhibited expected behavior in the permeability assay. Tenapanor exhibited minimal permeability across polarized MDCK monolayers with P_{app} values $\leq 0.02 \times 10^{-6}$ cm/s. Low efflux ratio for Tenapanor suggests that Tenapanor is not actively transported out of the MDCK cells after crossing the plasma membrane into the cytosol.

Permeability Results of Tenapanor and Control Compounds Across Polarized MDCK Monolayers

	AP (pH 7.4) → BL (pH 7.4)		BL (pH 7.4) → AP (pH 7.4)			AP (pH 6.5) → BL (pH 7.4)		BL (pH 7.4) → AP (pH 6.5)	
Compound	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Recovery (%)	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Recovery (%)	Efflux Ratio	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Recovery (%)	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Recovery (%)
Atenolol	0.5 ± 0.1	102 ± 2	1 ± 0.1	107 ± 4	2.1	0.5 ± 0.04	102 ± 10	2 ± 0.5	107 ± 9
Propranolol	28 ± 1	95 ± 6	18 ± 3	95 ± 6	0.7	7 ± 0.1	99 ± 1	26 ± 0.4	104 ± 1
Labetalol	6 ± 0.3	96 ± 0.6	14 ± 2	104 ± 0.5	2.3	1 ± 0.1	99 ± 2	14 ± 0.1	104 ± 0.3
Colchicine	0.3 ± 0.1	101 ± 3.7	3 ± 0.2	104 ± 2	8.9	0.3 ± 0.04	100 ± 1	3 ± 0.2	104 ± 2
Tenapanor[a]	<0.01 ± <0.01	86 ± 10	<0.01 ± <0.01	64 ± 5	0.3	<0.01 ± <0.01	83 ± 1	0.02 ± 0.03	59 ± 2

HBSS=Hanks' balanced salt solution
HEPES=4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
MES=2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid
Data expressed as mean ± SD.
a: "<" indicates values were BLQ.

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Single Dose Pharmacokinetic Study of AZ13792925		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliance: No		Study No.: RDX5791-M1-02
Species:	Mouse, C57BL/6	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/12 per group	
Feeding Condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	0.1% Tween80	
Method of Administration:	Oral (gavage)	
Sample:	Plasma	
Assay:	LC/MS/MS	
Analyte:	M1	
Dose (mg/kg):	100, 300	
Pharmacokinetic Parameter	100 mg/kg	300 mg/kg
$t_{1/2}$ (h)	NC	NC
t_{max} (h)	0.500	2.00
C_{max} (ng/mL)	41063	85419
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	104819	801778

NC=Not calculated
Pharmacokinetic parameters were calculated from mean plasma concentration data (n=3/point).
$t_{1/2}$ could not be calculated due to a lack of a distinct elimination phase.

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in CD-1 Mice					Test article：Tenapanor hydrochloride		
GLP Compliance: Yes					Study No.：RDX5791-TX-09		
Species		Mouse, CD-1					
Gender (M/F)/Number of Animals		M/F, 3 per point					
Feeding Condition:		Fed					
Vehicle/Formulation:		2% Tween 80 in deionized water					
Method of Administration:		Oral (gavage)					
Dose (mg/kg/day):		10, 50, 200					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):		Plasma					
Analyte:		Tenapanor					
Assay:		LC/MS/MS					
Pharmacokinetic parameter		Male			Female		
Dose (mg/kg/day)		10[a]	50	200	10[a]	50	200
C_{max} (ng/mL)	Day 0	1.26	18.3	12.0	1.10	1.54	7.85
	Day 27	14.1	14.0	34.1	60.8[b]	79.5	79.0[c]
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	Day 0	10.8	36.6	61.3	0.700	3.45	14.9
	Day 27	19.0	93.0	143	64.4[b]	152	332[c]

a: On study Day 0, concentrations were measurable at only 2 non-consecutive time points at 10 mg/kg/day.
b: If outlier was included, AUC_{0-t} was 268 ng·h/mL. C_{max} was 105 ng/mL.
c: If outlier was included, AUC_{0-t} was 575 ng·h/mL. C_{max} was 336 ng/mL.
Pharmacokinetic parameters were calculated from mean plasma concentration data (n=2 or 3/point).

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Determination of RDX5791 Plasma Levels After a Single Oral Dose in Sprague-Dawley Rats					Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
GLP Compliance: No					Study No.: RDX5791-PK-03
Species:	Rat, Sprague Dawley				
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3				
Feeding Condition:	Fasted				
Vehicle/Formulation:	Water				
Method of Administration:	Oral (gavage)				
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma				
Assay:	LC/MS/MS				
Dose (mg/kg/day):	30				
Analyte:	Tenapanor				
Concentration (ng/mL)	Time (h)	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Mean
	0.5	BLQ	4	BLQ	BLQ
	1	3	BLQ	BLQ	BLQ
	2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

Additional Information: Tenapanor was transiently observed in plasma at low concentrations when dosed orally at 30 mg/kg with a mean plasma concentration of <3 ng/mL (n=3). The concentration of Tenapanor in most samples was below the quantitative limit of the assay (2 ng/mL).

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study of RDX5791 in Rats						Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)						
GLP Compliance: No						Study No.: RDX5791-PK-04						
Species:	Rat, Sprague Dawley											
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/5 per group											
Feeding Condition:	Fasted											
Vehicle/Formulation:	2% Tween 80 in deionized water											
Method of Administration:	Oral (gavage)											
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma											
Assay:	LC/MS/MS											
Dose (mg/kg):	1, 10											
Analyte:	Tenapanor											
Sample Concentrations (ng/mL)	Dose 1 mg/kg						Dose 10 mg/kg					
	Time (h)	Rat I.D.					Time (h)	Rat I.D.				
		6791	6792	6793	6794	6795		6796	6797	6798	6799	6800
	0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	0.250	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.250	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	0.500	BLQ	BLQ	BLQ	1.11	BLQ	0.500	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	8	BLQ[a]	BLQ	BLQ	1.33	BLQ	8	BLQ	BLQ	0.597	1.97	BLQ
	24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ[a]	BLQ	24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

All but four rat plasma samples were found to be BLQ of 0.500 ng/mL for Tenapanor hydrochloride. As a result, no pharmacokinetic analysis was conducted.
a: BLQ of 1.00 ng/mL after dilution. Sample was not reassayed due to low sample volume.

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-10.00
Species:	Rat, Sprague Dawley and Long Evans
Study Design: Male rats were administered nominal doses of 1.0 mg/kg (Absorption and Distribution Study) and 0.3 mg/kg (Excretion/Mass Balance Study) of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride as a single, bolus oral dose. Tissue distribution in male rats was evaluated at specified times through 168 (Long Evans) or 72 (Sprague Dawley) hours postdose. Excretion and mass balance of the administered radioactivity were assessed in Sprague Dawley male rats (n=6) by evaluating urine and feces at specified intervals through 168 hours postdose, and in bile, urine, and feces collected at specified intervals through 120 hours postdose. Blood, bile, urine and feces were analyzed for total radioactivity by LSC. Tissue distribution of radioactivity was evaluated by QWBA. Radioactivity concentrations were expressed as ng equivalents of ^{14}C-Tenapanor/g (ng eq/g).	
Absorption and Distribution Studies	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3/time point (Sprague Dawley rats), M/1/time point (Long Evans rats)
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Acidified reverse osmosis water, pH 3.5
Method of Administration:	Oral (gavage)
Radionuclide:	^{14}C-Tenapanor hydrochloride
Dose:	1 mg/kg (90.7～94.2 μCi/kg)
Analyte:	^{14}C Radioactivity
Assay:	LSC
Sample:	Blood, plasma

Table continues

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Additional Information:

Group	Number of Male Animals		Dose Route	Target Dose Level (mg/kg)	Target Dose Volume (mL/kg)	Samples Collected
	LE	SD				
1	-	27	Oral	1.0	6.7	Blood
2	10	8		1.0	6.7	Blood and Carcasses for QWBA
3	-	3		0.3	10	Urine, Feces and Carcasses
4	-	3 BDC		0.3	10	Bile, Urine, Feces and Carcasses

BDC=Bile duct cannulated; LE=Long Evans; SD=Sprague Dawley; Notes: The dose ranged from 90.7 to 94.2 μCi/kg for Groups 1 and 2, and between 27.6 and 27.8 μCi/kg for Groups 3 and 4
-: NA

Study Design: For Group 1, three animals/time point were sacrificed via exsanguination (cardiac puncture) under isoflurane anesthesia at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 2, one male Long Evans animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 168 and 504 hours postdose. One male Sprague Dawley animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 3, urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 168 hours postdose. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 168 hours postdose. For group 4 urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose. The weight of each sample was recorded. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 120 hours postdose. Bile was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-2, 2-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose.

Pharmacokinetic Parameters for Radioactivity in Blood and Plasma in Pigmented and Non-pigmented Rats Following a Single Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride

Species	Matrix	t_{max} (h)	C_{max} (ng eq/g)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-t} (ng eq·h/g)	$AUC_{0-\infty}$ (ng eq·h/g)
Pigmented (Long Evans) Rats (Group 2)	Blood	8.00	6.11	NC	33.7	NC
	Plasma	8.00	6.96	NC	38.4	NC
Non-pigmented (Sprague Dawley) Rats (Group 1)	Blood	4.00	4.94	NC	70.5	NC
	Plasma	8.00	5.62	NC	81.9	NC

NC: Not calculated due to insufficient data in the elimination phase
eq: equivalents ^{14}C-Tenapanor

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Single and Multiple Dose Pharmacokinetics of Tenapanor and AZ13792925 in Sprague Dawley Rats		Test Article: Tenapanor hydrochloride, M1 (AZ13792925)
GLP Compliance: No		
Species:	Rat, Sprague Dawley	Study No.: RDX5791-M1-05
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3, F/3 per group	
Feeding Condition:	Fasted	
Vehicle/Formulation:	0.1% Tween 80 in water	
Method of Administration:	Oral (gavage)	
Sample:	Plasma	
Analyte	Tenapanor and M1	
Assay:	LC/MS/MS	
Dose (mg/kg/day):	Tenapanor hydrochloride: 5 or 10 M1: 5 or 30	

Pharmacokinetic Parameters of M1 in Rat Plasma Following Oral Dosing of Tenapanor hydrochloride

Day	Sex	Tenapanor hydrochloride Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)[a]	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} F/M	AUC F/M	C_{max}/D	AUC/D	RC_{max}	R_{AUC}
1	Female	5	7.63 ± 2.22	8.00	117 ± 22.4	NC	3.74	4.33	1.53	23.4	-	-
1	Female	10	9.05 ± 1.96	8.00	150 ± 23.1	NC	2.19	3.31	0.905	15.0	-	-
4	Female	5	16.5 ± 15.0	4.00	145 ± 63.8	NC	2.85	1.78	3.30	29.0	2.16	1.24
4	Female	10	12.3 ± 8.02	1.00	108 ± 60.9	NC	1.99	1.21	1.23	10.8	1.36	0.720
1	Male	5	2.04 ± 0.46	1.00	27.0 ± 4.00	NC	-	-	0.408	5.40	-	-
1	Male	10	4.13 ± 0.775	1.00	45.3 ± 6.20	NC	-	-	0.413	4.53	-	-
4	Male	5	5.79 ± 1.59	1.00	81.5 ± 19.1	7.40	-	-	1.16	16.3	2.84	3.02
4	Male	10	6.18 ± 1.51	2.00	89.0 ± 19.3	7.10 ± 1.40	-	-	0.618	8.90	1.50	1.96

Table continues

Study Title: Single and Multiple Dose Pharmacokinetics of Tenapanor and AZ13792925 in Sprague Dawley Rats (Continued)													Test Article: Tenapanor hydrochloride, M1 (AZ13792925)
Pharmacokinetic Parameters of M1 in Rat Plasma Following Oral Dosing of M1													
Day	Sex	M1 Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)[a]	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} F/M	AUC F/M	C_{max}/D	AUC/D	RC_{max}	R_{AUC}	
1	Female	5	2300 ± 332	1.00	15400 ± 175	4.97 ± 2.96	1.42	1.62	460	3080	-	-	
1	Female	30	13200 ± 1150	1.00	122000 ± 5530	4.72 ± 1.04	1.34	1.85	440	4067	-	-	
4	Female	5	2520 ± 452	0.500	18600 ± 1750	3.03 ± 0.171	0.988	1.66	504	3720	1.10	1.21	
4	Female	30	17800 ± 1100	1.25	176000 ± 4010	3.90 ± 1.04	1.42	1.52	593	5867	1.35	1.44	
1	Male	5	1620 ± 282	1.00	9490 ± 1660	3.64 ± 1.15	-	-	324	1898	-	-	
1	Male	30	9880 ± 1320	0.500	66100 ± 1750	2.73	-	-	329	2203	-	-	
4	Male	5	2550 ± 633	0.250	11200 ± 1360	2.96 ± 0.920	-	-	510	2240	1.57	1.18	
4	Male	30	12500 ± 704	0.500	116000 ± 24500	2.47 ± 0.686	-	-	417	3867	1.27	1.75	

C_{max} F/M=Female-to-male C_{max} ratio, AUC F/M=Female-to-male AUC_{0-t} ratio, C_{max}/D=The C_{max} divided by the nominal dose (D), AUC/D=The AUC_{0-t} divided by the nominal dose (D), RC_{max}=Accumulation ratio (Day 4 C_{max} divided by Day 1 C_{max}), R_{AUC}=Accumulation ratio (Day 4 AUC_{0-t} divided by Day 1 AUC_{0-t})

a: Median calculated for t_{max}

Data represents mean ± SD, n=3.

-: Not applicable

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats						Test article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)			
GLP compliance: Yes						Study No.: RDX5791-TX-5			
Species		Rat, Sprague Dawley							
Gender (M/F)/Number of Animals		M/3, F/3 per time points							
Feeding Condition:		Fed							
Vehicle/Formulation:		2% Tween 80 in deionized water							
Method of Administration:		Oral (gavage)							
Dose (mg/kg/day):		30, 100, 300, 1000							
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):		Plasma							
Analyte:		Tenapanor							
Assay:		LC/MS/MS							
Pharmacokinetic parameter		Male				Female			
Dose (mg/kg)		30	100	300	1000	30	100	300	1000
t_{max} (h)	Day 0	8	0.5	0.5	1	2	1	4	0.5
	Day 15	1	1	8	0.5	4	2	0.5	4
C_{max} (ng/mL)	Day 0	0.607	2.20	2.57	9.79	0.683	5.34	1.27	45.3
	Day 15	11.3	22.5	76.0	107	30.5	50.0	34.0	202
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	Day 0	3.46	9.33	14.6	79.4	1.69	58.6	19.4	182
	Day 15	135	164	959	1317	387	413	560	2759

All toxicokinetic parameters were calculated from mean plasma concentration data (n=3/time point).

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study of RDX5791 in Dogs		Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
GLP Compliance: No		Study No.: RDX5791-PK-05
Species	Dog, Beagle	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/4 per group	
Feeding Condition:	Fasted	
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsule/Tenapanor hydrochloride powder	
Method of Administration:	Oral (capsule)	
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	
Assay:	LC/MS/MS	
Dose (mg/kg):	1, 10	
Analyte:	Tenapanor	

Sample Concentrations (ng/mL)

Dose 1 mg/kg				
Time (h)	Dog I.D.			
	1	2	3	4
0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.25	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
8	BLQ	0.542	3.30	BLQ
24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

Dose 10 mg/kg				
	Dog I.D.			
Time (h)	5	6	7	8
0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.25	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
0.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
4	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
8	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
24	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

All but two dog plasma samples were found to be below the quantifiable limit of 0.500 ng/ml for Tenapanor hydrochloride. As a result, no pharmacokinetic analysis was conducted.

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: Determination of the Pharmacokinetics of Tenapanor Hydrochloride and Tenapanor M1 after a Single Oral Dose to Dogs					Test Article: Tenapanor hydrochloride	
GLP Compliance: No					Study No.:RDX5791-PK-13	
Species:	Dog, Beagle (portal vein cannulated)					
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3 per group					
Feeding Condition:	Fasted					
Vehicle/Formulation:	Capsules (size 12)/Tenapanor hydrochloride					
Method of Administration:	Oral (capsule)					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Assay:	LC/MS/MS					
Dose (mg/kg):	1000					
Analyte:	Tenapanor, M1					
Pharmacokinetic Prameters of Tenapanor in Male Dog Plasma						
Matrix	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
Plasma (jugular)	4.26 ± 0.576	2.67 ± 1.15	15.5 ± 6.15	18.9 ± 5.14	NC[b]	NC[b]
Plasma (portal)	17.4 ± 8.62	3.33 ± 1.15	90.4 ± 35.6	90.4 ± 35.6	NC[b]	NC[b]
Portal vein to jugular vein ratio[a]	4.02 ± 1.83	NA	5.82 ± 0.741	4.72 ± 1.09	NA	NA
Pharmacokinetic Prameters of M1 in Male Dog Plasma						
Matrix	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
Plasma (jugular)	13.0 ± 2.48	5.33 ± 2.31	152 ± 43.9	152 ± 43.9	139[c]	6.13[c]
Plasma (portal)	9.48 ± 2.31	5.33 ± 2.31	118 ±43.2	118 ± 43.2	NA	NC
Portal vein to jugular vein ratio[a]	0.725 ± 0.0453	NA	0.769 ± 0.138	0.769 ± 0.138	NA	NA
Conclusions: Metabolite M1 to parent ratios for C_{max} and AUC_{0-t} ranged from 2.64 to 14.2 in plasma collected from the jugular vein and from 0.477 to 1.76 in plasma collected from the portal vein. Tenapanor mean C_{max} and AUC_{0-t} were higher in plasma collected from the portal vein when compared to plasma collected from the jugular vein. M1 mean C_{max} and AUC_{0-t} were, in general, similar in plasma collected from the jugular and portal vein.						

Data represents mean±SD, n=3

a: Ratio of pharmacokinetic parameters of Tenapanor or M1 in plasma collected from the portal vein to plasma collected from the jugular vein

b: $AUC_{0-\infty}$ and $t_{1/2}$ could not be calculated due to a lack of a distinct elimination phase.

c: Mean, n=2

3 薬物動態試験：吸収（続き）

Study Title: AZD1722: Determination of AZ13792925 in Plasma Samples From a Toxicological Study (Study No. [redacted]-775031) in Dogs: Toxicokinetic Evaluation including Bioanalysis			Test Article: Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
GLP Compliance: Yes			Study No.: 322009
Species:	Dog, Beagle		
Gender (M/F)/Number of Animals:	M4/F4		
Feeding Condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsule/Tenapanor hydrochloride powder		
Method of Administration:	Oral (capsule)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	M1		
Assay:	LC/MS/MS		
Dose Level:	1000 mg/kg/day for 39 weeks		
PK Parameter		Week 4	Week 38
Males	Median t_{max} (range) (h)	8 (8, 8)	8 (8, 8)
	Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	21.3 (2.78)	19.3 (2.72)
	Mean AUC_{0-t} (SD) (ng·h/mL)	347 (41.9)	334 (51.1)
Females	Median t_{max} (range) (h)	8 (4, 8)	4 (2, 4)
	Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	19.4 (2.52)	22.3 (3.13)
	Mean AUC_{0-t} (SD) (ng·h/mL)	317 (31.9)	346 (27.0)
Males and females	Median t_{max} (range) (h)	8 (4, 8)	6 (2, 8)
	Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	20.4 (2.66)	20.8 (3.14)
	Mean AUC_{0-t} (SD) (ng·h/mL)	332 (37.9)	340 (38.3)
Additional Information: All animals dosed with Tenapanor hydrochloride were exposed to its metabolite M1. Systemic exposure to M1 was comparable in both sexes at Weeks 4 and 38; Toxicokinetic analysis for Tenapanor was performed as part of study [redacted]-775031.			

Data represents mean (SD), n=4 for males and females groups, n=8 for males and females combined.

4 薬物動態試験：分布

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-10.00
Species:	Rat, Sprague Dawley (male) and Long Evans (male)
Study Design: Male rats were administered nominal doses of 1.0 mg/kg (Absorption and Distribution Study) and 0.3 mg/kg (Excretion/Mass Balance Study) of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride as a single, bolus oral dose. Tissue distribution in male rats was evaluated at specified times through 168 (Long Evans) or 72 (Sprague Dawley) hours postdose. Excretion and mass balance of the administered radioactivity were assessed in Sprague Dawley male rats (n=6) by evaluating urine and feces at specified intervals through 168 hours postdose, and in bile, urine, and feces collected at specified intervals through 120 hours postdose. Blood, bile, urine and feces were analyzed for total radioactivity by LSC. Tissue distribution of radioactivity was evaluated by QWBA. Radioactivity concentrations were expressed as ng equivalents of ^{14}C -Tenapanor/g (ng eq/g).	
Absorption and Distribution Studies	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/1/time point (Sprague Dawley rats), M/1/time point (Long Evans rats)
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Acidified reverse osmosis water, pH 3.5
Method of Administration:	Oral (gavage)
Radionuclide:	^{14}C-Tenapanor hydrochloride
Dose:	1 mg/kg (90.7～94.2 μCi/kg)
Analyte:	^{14}C Radioactivity
Assay:	Blood: LSC, Tissues: QWBA

Table continues

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-10.00

Additional Information:

Group	Number of Male Animals		Dose Route	Target Dose Level (mg/kg)	Target Dose Volume (mL/kg)	Samples Collected
	LE	SD				
1	-	27	Oral	1.0	6.7	Blood
2	10	8		1.0	6.7	Blood and Carcasses for QWBA
3	-	3		0.3	10	Urine, Feces and Carcasses
4	-	3 BDC		0.3	10	Bile, Urine, Feces and Carcasses

BDC=Bile duct cannulated; LE=Long Evans; SD=Sprague Dawley; Notes: The dose ranged from 90.7 to 94 2 μCi/kg for Groups 1 and 2, and between 27.6 and 27.8 μCi/kg for Groups 3 and 4
-: NA

Study Design: For Group 1, three animals/time point were sacrificed via exsanguination (cardiac puncture) under isoflurane anesthesia at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 2, one male Long Evans animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 168 and 504 hours postdose. One male Sprague Dawley animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 3, urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 168 hours postdose. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 168 hours postdose. For Group 4, urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose. The weight of each sample was recorded. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 120 hours postdose. Bile was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-2, 2-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose.

Table continues

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Long Evans Rats

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B30895	B30896	B30897	B30898	B30899	B30900	B30901	B30902	B30903
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)	(168 h)
Adrenal Gland(s)	ND	ND	NDa	15.0b	BLQ	ND	ND	ND	ND
Arterial Wall	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	ND	ND	ND	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Bone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone Marrow	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Cerebellum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Cerebrum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Medulla	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Olfactory Lobe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-Urethral Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	ND	ND	13.6	26.3	41.7	BLQ	38.9	ND	ND
Contents, Cecum	ND	ND	279	13900	4480	218	668	ND	ND
Contents, Esophageal	4220	550	1330	38.9	31.8	ND	ND	ND	ND
Contents, Large Intestine	ND	NR	ND	13800	17400	1190	642	BLQ	ND
Contents, Small Intestine	12700	20000	31100	1310	2500	37.5	63.1	BLQ	ND
Contents, Stomach	41700	53100	23800	7310	6420	ND	45.9	ND	ND
Diaphragm	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Epididymis	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Esophagus	BLQ	BLQ	36.2	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND

Table continues

a: Tissue not detectable due to flare of gastrointestinal contents
b: Tissue appeared to be fat-soaked

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Long Evans Rats (Continued)

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B30895	B30896	B30897	B30898	B30899	B30900	B30901	B30902	B30903
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)	(168 h)
Exorbital Lacrimal Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye Lens	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye Uveal Tract	ND	ND	19.6	47.2	63.0	34.5	34.8	34.3	ND
Eye(s)	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Fat (abdominal)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Harderian Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Intra-Orbital Lacrimal Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney Cortex	ND	12.4	20.4	35.5	39.4	ND	ND	ND	ND
Kidney Medulla	ND	BLQ	BLQ	14.2	11.2	ND	ND	ND	ND
Kidney(s)	ND	10.8	17.3	31.6	31.0	ND	ND	ND	ND
Large Intestine	ND	ND	ND	BLQ	10.6	BLQ	15.2	ND	ND
Liver	31.2	22.7	40.5	77.8	100	21.2	14.1	BLQ	ND
Lung(s)	ND	ND	BLQ	BLQ	11.6	ND	ND	ND	ND
Lymph Node(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Meninges	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Nasal Turbinates	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pancreas	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Pituitary Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial Gland	ND	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND
Prostate Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Table continues

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Long Evans Rats (Continued)

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B30895	B30896	B30897	B30898	B30899	B30900	B30901	B30902	B30903
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)	(168 h)
Salivary Gland(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Seminal Vesicle(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Small Intestine	233	NDa	61.5	93.4	29.9	48.3	12.8	ND	ND
Spinal Cord	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	ND	ND	BLQ	10.4	ND	ND	ND	ND	ND
Stomach	75.4	32.2	35.4	38.1	BLQ	ND	ND	ND	ND
Testis (es)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thymus	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary Bladder	ND	NR	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	ND	NR	25.4	44.5	ND	ND	ND	ND	ND

Table continues

a: Tissue not detectable due to flare of gastrointestinal contents

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Sprague Dawley Rats

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)							
	Animal Number (Sacrifice Time)							
	B30885	B30886	B30887	B30888	B30889	B30890	B30891	B30892
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)
Adrenal Gland(s)	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ[a]	ND	ND	ND
Arterial Wall	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Bone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone Marrow	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Cerebellum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Cerebrum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Medulla	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain Olfactory Lobe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-Urethral Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	ND	ND	72.2	48.0	NDb	65.6	BLQ	ND
Contents, Cecum	ND	ND	706	6420	9370	1510	26.9	ND
Contents, Esophageal	2930	304	141	7350	33.9	17.3	ND	ND
Contents, Large Intestine	ND	ND	ND	240	25600	3590	51.6	BLQ
Contents, Small Intestine	24700	22700	21900	32100	1960	769	BLQ	ND
Contents, Stomach	49800	43900	62000	98100c	401	624	ND	ND
Diaphragm	ND	ND	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Epididymis	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Esophagus	20.1	17.6	BLQ	ND	BLQ	ND	ND	ND

Table continues

a: Tissue appeared to be fat-soaked
b: Tissue not detectable due to flare of gastrointestinal contents
c: One or more samples were above the upper limit of quantitation (>107000 ng equivalents ^{14}C-Tenapanor/g).

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Sprague Dawley Rats (Continued)

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)							
	Animal Number (Sacrifice Time)							
	B30885	B30886	B30887	B30888	B30889	B30890	B30891	B30892
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)
Exorbital Lacrimal Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye Lens	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye Uveal Tract	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Harderian Gland	ND	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND
Intra-Orbital Lacrimal Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney Cortex	ND	BLQ	20.2	34.1	24.7	ND	ND	ND
Kidney Medulla	ND	BLQ	19.1	17.9	11.0	ND	ND	ND
Kidney(s)	ND	BLQ	19.5	29.3	21.2	BLQ	ND	ND
Large Intestine	ND	ND	ND	BLQ	NDa	12.8	BLQ	ND
Liver	13.3	18.7	36.3	55.1	59.1	31.0	BLQ	BLQ
Lung(s)	ND	BLQ	BLQ	BLQ	11.0	ND	ND	ND
Lymph Node(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Meninges	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Nasal Turbinates	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pancreas	ND	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Pituitary Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Table continues

a: Tissue not detectable due to flare of gastrointestinal contents

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Concentrations of Radioactivity in Blood and Tissues Determined by Quantitative Whole-body Autoradiography at Specified Times after a Single 1 mg/kg Oral Administration of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride to Male Sprague Dawley Rats (Continued)

Tissue	Concentration (ng Equivalents 14C-Tenapanor/g)							
	Animal Number (Sacrifice Time)							
	B30885	B30886	B30887	B30888	B30889	B30890	B30891	B30892
	(0.5 h)	(1 h)	(2 h)	(4 h)	(8 h)	(24 h)	(48 h)	(72 h)
Prostate Gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Salivary Gland(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Seminal Vesicle(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Small Intestine	18.0	17.7	20.7	21.8	122	19.4	BLQ	ND
Spinal Cord	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	ND	ND	BLQ	10.4	ND	ND	ND	ND
Stomach	53.8	BLQ	25.2	13.6	BLQ	BLQ	ND	ND
Testis(es)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thymus	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary Bladder	ND	ND	83.0	BLQ	BLQ	65.8	ND	ND
Urine	BLQ	ND	28.6	55.4	41.4	22.1	ND	ND

BLQ=Below the limit of quantitation (<10.2 ng equivalents ^{14}C-Tenapanor/g)
h=Hours
ND=Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue)
NR=Not represented (tissue not present in section)

4 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Estimation of Plasma Protein Binding for RDX5791 in Human, Rat, and Dog Plasma using the Rapid Equilibrium Dialysis Device	Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
GLP Compliance: No	Study No.: RDX5791-PK-07, Rev. 2
Study System:	Plasma from rat, dog and human
Test System and Method: Plasma protein binding using equilibrium dialysis (RED) device	

Additional Information:
Nominal Concentration: 1 μmol/L
Species (strain, sex): Rat (Sprague Dawley, male), Dog (Beagle, male), Human (pooled)
Test Matrix: Plasma (all species) and Buffer
Plasma protein binding (PPB) Methodology: Equilibrium Dialysis RED Device
Equilibration time for PPB: 2, 5, 16 hours
Analytical Method: LC/MS/MS
Assays for plasma protein binding of Tenapanor, 1 μmol/L, were set up in rat plasma and evaluated with various incubation times. As summarized below. Similar results were obtained at time points ranging from 2-16 hours of initiating dialysis in the RED device. Thus, the 5 hours incubation time was sufficient to achieve equilibrium under these conditions.

Plasma Protein Binding Assays in Rat Plasma with Various Incubation Times

Compound	Dialysis Time					
	2 hours		5 hours		16 hours	
	% Bound	% Recovery	% Bound	% Recovery	% Bound	% Recovery
Warfarin	99.4 ± 0.09	128	99.1 ± 0.06	100	99.4 ± 0.11	109
Propranolol	87.7 ± 0.71	122	80.7 ± 1.63	107	87.1 ± 0.90	83.7
Tenapanor	99.7 ± 0.12	129	99.5 ± 0.11	123	99.6 ± 0.06	114

Plasma Protein Binding in Human, Rat, and Dog Plasma (Incubation time: 5 hours)

Compound	Human Plasma (% bound)	Rat plasma (% bound)	Dog Plasma (% bound)
Warfarin	99.3 ± 0.4	99.6 ± 0.1	97.0 ± 0.5
Propranolol	82.2 ± 0.6	95.8 ± 0.1	92.7 ± 0.3
Atenolol	14.8 ± 1.2	19.4 ± 3.8	11.5 ± 3.5
Tenapanor	98.7 ± 0.2	99.9 ± 0.02	100 ± 0.01

Data represents mean ± SD, n=3.

4 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: The Determination of the In Vitro Binding of AZD1722 to Plasma Proteins in the Mouse, Rat, Rabbit, Dog and Human Species	Test Article: Tenapanor (AZD1722)
GLP Compliance: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0110
Study System:	Plasma from mouse, rat, rabbit, dog and human
Test System and Method: Plasma protein binding using equilibrium dialysis (RED) device	

Additional Information:
Batch of Compound: 001
Nominal Concentrations: 1 µmol/L for stability assessment in rat plasma, 100 µmol/L for plasma protein binding (PPB) assessment
Species (strain, sex): Mouse (CD-1, male), Rat (Han Wistar, male), Rabbit (New Zealand White, female), Dog (Beagle, male), Human (male)
Test Matrix: Plasma (all species) and Buffer
PPB Methodology: Equilibrium Dialysis RED Device
Equilibration Time for PPB: 6 and 24 hours for stability assessment in rat plasma, 24 hours for PPB assessment
Analytical Method: LC/MS/MS
Internal Standard: Verapamil
Batch of Internal Standard: V4629

Species	Concentration Tested	Plasma Protein Binding (% Free)	Stability at 37°C in rat plasma (1 µmol/L) % Remaining
Mouse	100 µmol/L	< 0.00100	Not tested
Rat		0.00701 ±0.00109	106 ± 1.00 (6 hours) 108 ± 3.06 (24 hours)
Rabbit		0.00748 ± 0.00182	Not tested
Dog		0.00313 ± 0.000963	Not tested
Human		0.00300 ± 0.000607	Not tested

Data represents mean ± SD, n=3.

4 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: The Determination of the In Vitro Binding of AZ13792925 to Plasma Proteins in the Mouse, Rat, Rabbit, Dog and Human		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliance:	No	Study No.: ADME-[redacted]0318
Study System:	Plasma from mouse, rat, rabbit, dog and human	
Test System and Method: Plasma protein binding using equilibrium dialysis (RED) device		
Additional Information: Batch of Compound: 003 Nominal Concentrations: 0.01, 0.1, 1 and 10 µmol/L Species (strain, sex): Mouse (CD-1, male), Rat (Han Wistar, male), Rabbit (New Zealand White, female), Dog (Beagle, male), Human (male) Test Matrix: Plasma (all species) and Buffer Plasma protein binding (PPB) Methodology: Equilibrium Dialysis RED Device Equilibration time for PPB: 18 hours Analytical Method: LC/MS/MS Internal Standard: [$^{13}C_6$]AZ13803499-002		

	Plasma Protein Binding (% Free) of M1			
Species	0.01 µmol/L	0.1 µmol/L	1 µmol/L	10 µmol/L
Mouse	2.42 ± 0.439	2.65 ± 0.106	2.53 ± 0.135	4.52 ± 0.305
Rat	2.03 ± 0.260	1.96 ± 0.0335	2.07 ± 0.0636	2.91 ± 0.218
Rabbit	4.89 ± 0.370	4.55 ± 0.0603	4.46 ± 0.0907	5.03 ± 0.143
Dog	5.15 ± 0.577	4.93 ± 0.0977	4.96 ± 0.113	5.58 ± 0.291
Human	3.43 ± 0.425	3.20 ± 0.0822	3.21 ± 0.195	3.22 ± 0.362

Data represents mean ± SD, n=3.

4 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: The Determination of the In Vitro Blood Partition of AZ13792925 in Human Whole Blood		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliance: No		Study No.: ADME-[redacted]0331
Study System:	Whole blood from human	

Additional Information
Nominal Concentration: 10 µmol/L
Species (strain, sex): Human (male and female, pool of n≥3)
Test Matrix: Plasma
Incubation time and temperture: 30 minutes, 37°C
Analytical Method: LC/MS/MS
AZ10003646-025 and AZ11657055-002 were used as reference compounds.

	R_b			
Test Compound	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3	Mean ± SD, n=3
M1	18.7	15.3	16.0	16.7 ± 1.78
AZ10003646-025	0.614	0.586	0.565	0.588 ± 0.0246
AZ11657055-002	39.2	31.4	51.5	40.7 ± 10.1

4 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Determination of the In Vitro Human Blood to Plasma Partition Ratio of AZ13792925		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliance: No		Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0704-BP
Study System:	Whole blood from human	
Additional Information Nominal Concentration: 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 μmol/L Species (strain, sex): Human (3 males and 2 females) Test Matrix: Plasma Incubation time and temperture: 1 hour, 37°C Analytical Method: LC/MS/MS Chloroquine phosphate was used as the positive control in this assay.		

Test Compound	R_b in Human Whole Blood		
	Species	Test Concentration (μmol/L)	R_b
M1	Human	0.03	5.21 ± 1.62
		0.1	5.87 ± 0.992
		0.3	5.13 ± 0.479
		1	5.33 ± 0.425
		3	5.66 ± 0.903
Chloroquine		5	2.35 ± 0.146

Data represents mean ± SD, n=3.

5 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

No dedicated non-clinical studies were conducted, evaluating the pharmacokinetics of Tenapanor in pregnant or nursing animals. However, the PK parameters were evaluated as part of the Reproductive/Developmental Juvenile Toxicity studies and discussed under these sections.

6 薬物動態試験：その他の分布試験

Study Title: Intestinal Pharmacokinetic Studies of RDX5791	Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-08.00
Species:	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	3 per group/time point
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Deionized water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	0.5 (Tenapanor hydrochloride), 1 (PEG3350, soluble, non-absorbable marker)
Assay:	LC/MS/MS
Sampling Time:	1, 4, 8, 12, 16 and 24 hours post-dose

Additional Information:
Groups (n=3) of animals were sacrificed at each post-dose time point (nominally 1, 4, 8, 12, 16, and 24 hours). At each time point, longitudinal segments of the GI were isolated and their contents collected into various sized polypropylene centrifuge or microcentrifuge tubes. The segments of the GI tract isolated included: SI-1, the duodenum or the first 10 cm distal to the pyloric valve; SI-2, the proximal 50% of the remaining small intestine subsequent to SI-1 removal; SI-3, the distal 50% of the remaining small intestine to the ileocecal valve subsequent to SI-1 removal; cecum; PC, the proximal 50% of the large intestine; and DC, the distal 50% of the large intestine to the anus.

Dilution of Tenapanor and PEG3350 Dosing Solutions in SI-2 and SI-3 at 4 or 8 hours after Dosing

		PEG3350			Tenapanor		
GI Segment	Time Point	PEG3350 (µmol/L) (n=3)	Conc. in Dosing Solution	Dilution Factor Range	Tenapanor (µmol/L) (n=3)	Conc. in Dosing Solution	Dilution Factor Range
SI-2	4 hours	0.156	0.1 mg/mL ~30 µmol/L	122-192	0.76	0.05 mg/mL ~44 µmol/L	58-176
	8 hours	0.246			0.25		
SI-3	4 hours	0.78	0.1 mg/mL ~30 µmol/L	9-38	1.31	0.05 mg/mL ~44 µmol/L	34-98
	8 hours	3.28			0.45		

PEG=Polyethylene glycol
GI=Gastrointestinal

7 薬物動態試験：代謝

Study Title: Stability of RDX5791 in Simulated Gastric and Intestinal Fluids				Test Article: Tenapanor (RDX5791)
GLP Compliant: No				Study No.: RDX5791-PK-01
Study System:	Simulated gastric fluid (SGF) and simulated intestinal fluid (SIF)			
Analytic Method:	LC/MS/MS analysis or HPLC with UV detection			
Time:	3 hours in SIF; 3 hours or 6 days in SGF			
Concentration:	10 μmol/L			
Compounds:	Tenapanor (RDX5791) and positive control Rifampicin			
Additional Information: Tenapanor was diluted from a DMSO stock solution to a final concentration of 10 μmol/L in 1 mL simulated gastric fluid (SGF; without pepsin) and simulated intestinal fluid (SIF; without pancreatin) containing 3 mg/mL of pepsin or pancreatin, respectively. The final DMSO concentration was 0.4%. In the 3 hour experiments a control compound, rifampicin was used as a benchmark in the assay. As a neutral-buffered control, Tenapanor and rifampicin were also added to SIF without pancreatin (SIFsp). Tenapanor was incubated in the presence of simulated gastric or intestinal fluids for varying lengths of time and at various temperatures. The extent to which Tenapanor degraded over time was assessed using LC/MS/MS analysis or HPLC with UV detection.				
Percent of Tenapanor Remaining after Incubation in SGF and SIF				
Compound	Remaining Tenapanor in Simulated Fluids (%)			
	3 hours in SIF (no pancreatin)	3 hours in SIF 3 mg/mL pancreatin	3 hours in SGF 3 mg/mL pepsin	~6 days in SGF 3 mg/mL pepsin
Tenapanor	101	94	104	101 (37°C) 98 (50°C)
Rifampicin	90	7	16	-

SGF=Simulated gastric fluid
SIF=Simulated intestinal fluid
-: Not tested
Data represents single replicate or mean (n=3).

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Metabolic stability and preliminary identification of RDX5791 metabolites using in vitro models of rat, dog, and human drug metabolism			Test Article: Tenapanor (RDX5791)		
GLP Compliant: No			Study No.: RDX5791-PK-06		
Study System:	Rat, dog or human liver microsomes				
Additional Information: Tenapanor at 1 μmol/L was incubated directly with human, rat or dog liver microsomes (0.5 mg/mL protein) in the presence and absence of the cytochrome P450 cofactor NADPH for metabolic stability assays. For preliminary identification of Tenapanor metabolites, the compound was incubated at a concentration of 20 μmol/L with human, rat and dog liver microsomes (1 mg/mL protein) along with NADPH. Analysis was performed using LC/MS/MS.					
Metabolic Stability and CL_{int} of Tenapanor					
Parameter			Species		
			Human	Dog	Rat
Protein Concentration (mg/mL)			0.5	0.5	0.5
$t_{1/2}$ (minutes)			1.4	1.5	4.7
CL_{int} (μL/min/mg protein)			1018	947	298
Tenapanor Metabolites found in Human, Dog, and Rat Liver Microsomes					
Metabolite	Retention Time	m/z	Human	Dog	Rat
M1	13.5 min	357	++	++	++
M2	12.8 min	371	++	++	+
M3	13.6 min	415	++	++	+
M4	14.8 min	459	++	++	++
M5	16.3 min	813	++	+	+
M6	14.8 min	543	-	++	++
M8	17.9 min	528	+	-	+
M9	17.9 min	597	+	-	++
M10	17.9 min	651	+	-	++

m/z=Mass to charge ratio
- =Not observed
+ =Observed
++ =Top 5 most abundant metabolites in a given species by base peak chromatogram (BPC) peak area
Retention time of Tenapanor is 23.4 min.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Tenapanor: Estimation of Plasma Exposures to Metabolites of Tenapanor in Man, Dog, Mouse and Rat				Test Article: Tenapanor hydrochloride, KHK7791	
GLP Compliance: No				Study No.: [redacted]381-39	
Species:		Mouse, Rat, Dog, Human		Gender (M/F)/Number of Animals: Pooled samples	
Feeding Condition:		Fed			
Vehicle/Formulation:		Mouse: 1% polysorbate 80, 1% DMSO in Milli Q water or 2% Tween in deionized water; Rat: 0.1% Tween80 in deionized water; Dog: Capsule; Human: Tablet			
Method of Administration:		Oral (gavage) for mice and rats, oral (capsule) for dogs and oral (tablet) for humans			
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):		Plasma		Assay:	LC/MS/MS
Analytes:		Tenapanor, M1, M2			
Additional information: Pooled samples from different species were analyzed to estimate relative plasma exposures to parent and metabolite.					
Species and Dose	Sex	Tenapanor (nmol/L)	M2 (nmol/L)	M1 (nmol/L)	Exposure Ratio for M1[a] (Animal/Human)
Human (Study No. D5611C00002)					
15 mg BID Day 4	M	ND	11.6	51.0	NA
CD-1 Mouse Micronucleus Assay (Study No. RDX5791-GT-04)					
500 mg/kg Day 2	M	17.9	13.4	29.2	0.57
500 mg/kg Day 2	F	65.9	14.5	32.0	0.63
1000 mg/kg Day 2	M	611.2	31.2	82.6	1.62
1000 mg/kg Day 2	F	68.3	22.2	47.1	0.92
2000 mg/kg Day 2	M	96.5	38.8	84.2	1.65
2000 mg/kg Day 2	F	118.2	44.7	135.6	2.66
CbyB6F1 Hybrid Mouse 1 Month Toxicology (Study No. 0977[redacted])					
400 mg/kg Day 28	M	16.0	5.1	7.9	0.15
400 mg/kg Day 28	F	17.9	4.7	6.7	0.13
Dog 3 Months Toxicology (Study No. RDX5791-TX-11)					
1000 mg/kg Day 89	M+F	10.6	143.1	82.5	1.62
Rat 3 Months Toxicology (Study No. RDX5791-TX-10)					
5 mg/kg Day 89	M	<1	<1	6.5	0.13
5 mg/kg Day 89	F	<1	<1	17.0	0.33

BID=bis in die

a: Exposure ratio for M1 = (Concentration of M1 in animal) / (Concentration of M1 in human)

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Determination of the Human Cytochrome P450 Enzymes Involved in the Metabolism of AZD1722 (AZ13667691)	Test Article: Tenapanor (AZD1722)
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted] (CYP Isoform ID)-[redacted]0527
Study System:	*E. coli* bactosomes expressing individual human CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2 E1, CYP3A4 and CYP3A5 isoforms
Additional Information: Bactosomes with 100 pmol/mL of CYP protein were incubated with Tenapanor at 2 µmol/L for 25 minutes. CYP isoforms involved in Tenapanor metabolism was confirmed by assessment of test compound loss and by mass spectrometry. CYP isoforms involved in formation of the M1 metabolite (M1) were identified by mass spectrometry for M1. Phenacetin, coumarin, bupropion, diclofenac, chlorzoxazone and midazolam (2 µmol/L) were used as positive controls for CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2E1 and CYP3A5, respectively. Amitriptyline (2 µmol/L) was used as a positive control for CYP2C8, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4.	
CL_{int} and the Percentage of Total Metabolism of Tenapanor per CYP P450 Isozyme Responsible for Metabolism	

Isoform	CL_{int} (µL/min/pmol CYP)	(% of total)[a]
CYP1A2	0.199 ± 0.0334	0.301
CYP2A6	0.0773 ± 0.0206	0.0450
CYP2B6	0.0229 ± 0.0396 [b]	0.0113[b]
CYP2C8	3.14 ± 0.155	2.19
CYP2C9	0.258 ± 0.0307	0.308
CYP2C19	0.441 ± 0.0303	0.225
CYP2D6	1.64 ± 0.303	0.358
CYP2E1	NC[c]	NC[c]
CYP3A4	9.11 ± 0.821	56.8
CYP3A5	8.45 ± 0.425	39.8

Table continues

a: Relative contribution is for these isoforms only, calculated using inter-system extrapolation factors (ISEFs) and relative abundance factors.
b: Turnover was observed in one experiment. CL_{int} was not calculated (turnover was not significant in the T-test and % remaining at last time point was ≥80%) in the other two experiments.
c: CL_{int} not calculated (Turnover was not significant in the T-test and % remaining at last time point was ≥80%)

Study Title: Determination of the Human Cytochrome P450 Enzymes Involved in the Metabolism of AZD1722 (AZ13667691) (Continued)		Test Article: Tenapanor (AZD1722)	
CYP Isoforms Involved in the Formation of M1			
Isoform	Incubation Time (min)	Concentration (nmol/L)	Formation Velocity (pmol/min/nmol CYP)
CYP2C8	5	9.56 ± 1.19	19.1 ± 2.37
	10	16.3 ±2.34	16.3 ± 2.34
	15	20.5 ± 2.12	13.7 ± 1.41
	25	25.3 ±1.75	10.1 ± 0.699
CYP2C9	5	0.632 ± 0.333	1.26 ± 0.666
	10	1.13 ± 0.300	1.13 ± 0.300
	15	1.85 ±0.295	1.24 ± 0.197
	25	3.39 ± 0.753	1.36 ± 0.301
CYP2C19	5	2.45 ± 0.584	4.90 ± 1.17
	10	3.43 ± 0.725	3.43 ± 0.725
	15	3.88 ± 0.744	2.59 ± 0.496
	25	4.01 ± 0.528	1.60 ± 0.211
CYP2D6	5	6.25 ± 3.21	12.5 ± 6.42
	10	21.9 ± 9.30	21.9 ± 9.30
	15	40.5 ± 11.9	27.0 ± 7.93
	25	69.5 ± 9.60	27.8 ± 3.84
CYP3A4	5	170 ± 13.6	339 ± 27.2
	10	145 ± 24.0	145 ± 24.0
	15	119 ± 25.2	79.5 ± 16.8
	25	83.8 ± 25.4	33.5 ± 10.1
CYP3A5	5	123 ± 7.37	245 ± 14.7
	10	207 ± 14.4	207 ± 14.4
	15	249 ± 23.1	166 ± 15.4
	25	276 ± 26.9	110 ± 10.8

Data expressed as mean ± SD, n=3.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Evaluation of the Contribution of FMO Enzymes in the Metabolism of Tenapanor				Test Article: Tenapanor hydrochloride			
GLP Compliant: No				Study No.: RDX5791-PK-15			
Study System:	Human liver microsomes						
Analytes:	Tenapanor and M1						
Additional Information: Tenapanor was incubated at 1 μmol/L in HLM with or without NADPH to evaluate metabolic stability. Preincubations at 50°C or with ABT were done to inactivate FMOs or inhibit CYPs, respectively. Nifedipine and trimethylamine were used as control substrates for CYPs and FMOs, respectively, in the assay.							
CL_{int} and $t_{1/2}$ of Tenapanor and Nifedipine from Incubations (+NADPH) with Human Liver Microsomes							
Parameter	Tenapanor			Nifedipine			
	Control (HLM only)	+ABT	+50°C	Control (HLM only)	+ABT	+50°C	
CL_{int} (μL/min/mg protein)	744	101	389	265	33.1	123	
$t_{1/2}$ (min)	1.86	14.0	3.57	5.35	41.9	11.3	
Conclusion: FMOs do not contribute significantly to the overall metabolism of Tenapanor and that the metabolism of Tenapanor is primarily CYP-mediated.							

HLM=Human liver microsomes
Data expressed as mean, n=2.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: In Vitro Stability of Tenapanor Hydrochloride in Human Liver and Intestinal Microsomes		Test Article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No		Study No.: RDX5791-PK-14
Study System:	Human liver and intestinal microsomes	
Analyte:	Tenapanor and M1	
Additional Information: Tenapanor was incubated at 1 μmol/L in HLM or HIM with NADPH to evaluate metabolic stability. Nifedipine was used as the positive control in the assay. Reactions were quenched at 0, 2, 4, 6, 10, 20 and 30 minutes, and Tenapanor and M1 levels were measured by LC/MS/MS.		

CL_{int} and $t_{1/2}$ of Tenapanor and Nifedipine from Incubations (+NADPH) with Human Liver or Intestinal Microsomes

Parameter	Tenapanor		Nifedipine	
	Liver (HLM)	Intestine (HIM)	Liver (HLM)	Intestine (HIM)
CL_{int} (μL/min/mg protein)	927	592	280	104
$t_{1/2}$ (min)	0.748	1.17	2.47	6.71

HLM=Human liver microsomes
HIM=Human intestinal microsomes
Data expressed as mean, n=2.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Tenapanor: Metabolite Characterization of Tenapanor in Aroclor-1254 Induced Rat Liver S9 Fraction		Test Article: Tenapanor
GLP Compliant: No		Study No.: [redacted]381-43
Study System:	Aroclor-1254 induced rat liver S9 fraction	
Analyte:	M1	
Additional Information: Tenapanor was incubated at 100 µmol/L in aroclor-1254 induced rat liver S9 fraction for 3 hours in the presence of DMSO (1, 4 and 7%, v/v). The incubation consisted of aroclor-1254 induced rat (Sprague Dawley male) liver S9 fraction at a protein concentration of 0.6 mg/mL, 20 mmol/L sodium phosphate buffer (pH 7.4), 1, 4 or 7% (v/v) DMSO, cofactor mixture and 100 µmol/L Tenapanor or diltiazem (control) in a final volume of 50 µL.		
Estimate of M1 Formation after 3 hours Incubation of Tenapanor in Aroclor-1254 Induced Rat Liver S9 in the Presence of DMSO		
DMSO (%, v/v)	M1 Concentration (nmol/L)	
1	742	
4	671	
7	461	
Conclusion: Metabolite M1 was found in all incubations in the presence of DMSO (1, 4 and 7%, v/v) and M1 formation was semi-quantified in 3-hour incubations with concentrations ranging from 0.4 to 0.8 µmol/L.		

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: In Vitro Stability of AZ13792925 in Mouse, Rat, and Human Liver Microsomes				Test Article: M1 (AZ13792925)		
GLP Compliant: No				Study No.: RDX5791-M1-08		
Study System:	Mouse, rat, and human liver microsomes					
Analyte:	M1					
Additional Information: M1 was incubated at 1 μmol/L in MLM, RLM, or HLM with NADPH to evaluate metabolic stability. Nifedipine was used as the positive control in the assay.						
CL_{int} and $t_{1/2}$ of M1 and Nifedipine from Incubations (+NADPH) with Liver Microsomes						
Parameter	M1			Nifedipine		
	Mouse (MLM)	Rat (RLM)	Human (HLM)	Mouse (MLM)	Rat (RLM)	Human (HLM)
CL_{int} (μL/min/mg protein)	361	68.2	16.3	207	419	217
$t_{1/2}$ (min)	3.84	20.4	91.5	6.71	3.31	6.47
Conclusion: M1 is relatively more stable in human liver microsomes than in microsomes from mouse and rat liver.						

MLM=Mouse liver microsomes
RLM=Rat liver microsomes
HLM=Human liver microsomes
Data expressed as mean, n=2.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Evaluation of Induction Properties of AZ13667691 (AZD1722) on Cytochromes P450 mRNA Level: In Vitro Experiments Using HepaRG® Cells	Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)
GLP Compliant: No	Study No.: 00017/0022/0024/0025CYP_IND_HepaRG_AZ13667691
Type of Study:	CYP Induction
Method: HepaRG® cell monolayers were exposed to Tenapanor at 0.0001-50 µmol/L for 24 hours to investigate CYP mRNA content. mRNA content of three CYPs (CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4) was measured. Prototypical inducers of CYP1A2 (omeprazole), CYP2B6 (phenobarbital and CITCO) and CYP3A4 (rifampicin) were incubated in parallel with test compounds. mRNA of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4, was assessed by quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) relative to GAPDH, a housekeeping gene (standard curves were also performed to check linearity range). Fold-induction levels were calculated as a ratio between mRNA expression of induced cells and control (cells incubated without test compounds, only medium with 0.5% DMSO (v/v)).	

F2, EC_{50} and Fold Induction Values for CYP1A2 mRNA Expression in HepaRG® Cells Treated with Omeprazole or Tenapanor

Study Reference[a]	Test Compound	F2 (µmol/L)	EC_{50} (µmol/L)	E_{max}	Maximal Fold Induction[b]	Percent Positive Control Response
00017	Omeprazole	1.46	NC	NC	32.0 (16.7)	100
	Tenapanor	NI	NA	NA[c]	NI[c]	NI
00022	Omeprazole	1.66	NC	NC	229 (50)	100
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI
00024	Omeprazole	1.11	NC	NC	110 (50)	100
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI
00025	Omeprazole	0.96	NC	NC	95.0 (50)	100
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI

Table continues

a: Tenapanor was incubated at 0.21- 50 µmol/L in Study 00017, at 0.0001-20 µmol/L in Studies 00022, 00024 and 00025.
b: The number in the parenthesis is the concentration (µmol/L) of test compound at which maximum fold induction was observed.
c: Induction limited by toxicity

Study Title: Evaluation of Induction Properties of AZ13667691 (AZD1722) on Cytochromes P450 mRNA Level: In Vitro Experiments Using HepaRG® Cells (Continued)					Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)	
F2, EC_{50} and Fold Induction Values for CYP2B6 mRNA Expression in HepaRG® Cells Treated with Phenobarbital, CITCO or Tenapanor						
Study Reference[a]	Test Compound	F2 (μmol/L)	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}	Maximal Fold Induction[b]	Percent Positive Control Response
00017	Phenobarbital	NC	NC	NC	17.0 (2000)	100
	CITCO	NC	NC	NC	13.2 (1)	76.4
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI
00022	Phenobarbital	NC	NC	NC	25.2 (2000)	100
	CITCO	NC	NC	17.1 ± 1.4	NA	66.4
	Tenapanor	NC	NC	NC[c]	4.04[c] (0.001)	12.6
00024	Phenobarbital	157	NC	NC	18.0 (2000)	100
	CITCO	NC	0.017 ± 0.003	18.5 ± 0.6	NA	103
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI
00025	Phenobarbital	30.6	125 ± 6	24.1 ± 0.4	NA	100
	CITCO	NC	NC	30.5 ± 4.5	NA	128
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI

Table continues

a: Tenapanor was incubated at 0.21-50 μmol/L in Study 00017, at 0.0001-20 μmol/L in Studies 00022, 00024 and 00025.
b: The number in the parenthesis is the concentration (μmol/L) of test compound at which maximum fold induction was observed.
c: mRNA repression observed

Study Title: Evaluation of Induction Properties of AZ13667691 (AZD1722) on Cytochromes P450 mRNA Level: In Vitro Experiments Using HepaRG® Cells (Continued)					Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)	
F2, EC_{50} and Fold Induction Values for CYP3A4 mRNA Expression in HepaRG® Cells Treated with Rifampicin or Tenapanor						
Study Reference[a]	Test Compound	F2 (μmol/L)	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}	Maximal Fold Induction[b]	Percent Positive Control Response
00017	Rifampicin	NC	NC	NC	29.9 (20)	100
	Tenapanor	NC	NC	5.53 ± 0.51[c]	NA[c]	15.5
00022	Rifampicin	NC	NC	NC	18.4 (20)	100
	Tenapanor	NC	NC	NC[d]	3.46[d] (20)	14.1
00024	Rifampicin	NC	0.78 ± 0.22	46.8 ± 3.5	NA	100
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI
00025	Rifampicin	NC	NC	44.0 ±1.0	NA	100
	Tenapanor	NI	NA	NA	NI	NI

Data represents mean ± SD, n=3.
F2=Concentration leading to 2-fold increase of induction above the baseline level
NC=Not calculable (E_{max} not obtained and no EC_{50} was calculated or baseline not clearly defined)
NI=No induction
a: Tenapanor was incubated at 0.21-50 μmol/L in Study 00017, at 0.0001-20 μmol/L in Studies 00022, 00024 and 00025.
b: The number in the parenthesis is the concentration (μmol/L) of test compound at which maximum fold induction was observed.
c: Induction limited by toxicity
d: mRNA repression observed

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Assessment of the Cytochrome P450 Inhibition Potential of AZ13667691 (AZD1722) in Human Liver Microsomes		Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)
GLP Compliant: No		Study No.: 00008CYP_INH_LCMS_2_AZ13667691
Type of Study:	CYP Inhibition	
Method: The potential for reversible inhibition of CYP enzymes was investigated by co-incubation of Tenapanor at six concentrations (0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10 and 30 µmol/L) with human liver microsomes in the presence of the CYP enzyme marker substrates (bupropion, amodiaquine and nifedipine were used for CYP2B6, CYP2C8 and CYP3A, respectively) and NADPH, and then monitoring the rate of formation of CYP isoform-specific metabolites. If appropriate, the IC_{50} value (concentration of inhibitor required to produce 50% inhibition of metabolite formation) was determined for each test occasion. The metabolism of marker substrates was determined by LC/MS/MS methods. Relevant control incubations were performed and CYP isoform-selective reversible inhibitors were used as positive controls.		

Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes by Tenapanor

Test Compound	IC_{50} (µmol/L)		
	CYP2B6	CYP2C8	CYP3A (nifedipine)
Tenapanor	24.0	13.8	0.61
	11.4	7.93	0.57
	10.8	9.56	0.86
Mean	15.4	10.4	0.68
Reference Inhibitor	Thiotepa	Quercetin	Ketoconazole
Mean (n=2)	9.35	6.04	0.004

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Assessment of the Cytochrome P450 Inhibition Potential of AZ13667691 (AZD1722) in Human Liver Microsomes	Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0110
Type of Study:	CYP Inhibition

Method: The potential for reversible inhibition of CYP enzymes was investigated by co-incubation of Tenapanor at six concentrations (0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10 and 30 µmol/L) with human liver microsomes in the presence of the CYP enzyme marker substrates and NADPH, and then monitoring the rate of formation of CYP isoform-specific metabolites. The five substrates chosen to monitor human CYP isoform activity were phenacetin, diclofenac, S-mephenytoin, bufuralol and midazolam, which are predominantly metabolized by CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A, respectively. These substrates are used as a cocktail, and at concentrations equivalent to their respective K_m values. LC/MS/MS (MRM mode) is used to follow the formation of the CYP specific metabolites. A decrease in the formation of the metabolites in peak area to vehicle control is used to calculate the IC_{50} value. In addition, as a positive control, a cocktail of five standard inhibitors was used. Each inhibitor is specific for an individual CYP. The inhibitors used were α-naphthoflavone, sulphaphenazole, N-3-benzylnirvanol, quinidine and ketoconazole, which specifically inhibit CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A, respectively. This assay gives a full IC_{50} determination at six inhibitor concentrations in the assay for each of the five CYP isoforms with the five standard inhibitors and up to 11 test compounds (n=1).

	Inhibition of CYP Enzymes, IC_{50} (µmol/L)					
Test Compound	Assay No.	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A
Tenapanor	P078A01005	NI	15.4	>30[a](31.62%)	3.61	0.394
	P081A01005	NI	10.6	>30[a](35.01%)	3.53	0.374
	P087A01005	NI	16.6	>30[a](31.98%)	2.63	0.437
	Mean (n=3)	NI	14.2	>30[a](32.87%)	3.26	0.402
Reference Inhibitor	Assay No.	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A
	P078A01005	0.00357	0.348	0.162	0.0299	0.0251
	P081A01005	0.00314	0.345	0.128	0.0181	0.0148
	P087A01005	0.00430	0.465	0.186	0.0302	0.0280
	Mean (n=3)	0.00367	0.386	0.159	0.0261	0.0226

NI=No inhibition

a: Statistically significant inhibition was observed at the top concentration.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Evaluation of the Time-Dependent Inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by Tenapanor		Test Article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No		Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]1206-CYP TDI
Study System:	Human liver microsomes	
Type of Study:	CYP Inhibition (time-dependent)	

Method: The objective of this study was to evaluate the time-dependent inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by Tenapanor in human liver microsomes. The known substrates (phenacetin, bupropion, amodiaquine, diclofenac, S-mephenytoin, bufuralol and midazolam were used for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A, respectively) were converted by CYP isozymes to the corresponding metabolites and detected by UPLC/MS/MS. A decrease in the formation of metabolites by Tenapanor at six concentrations (0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 and 10 μmol/L) compared to the vehicle control was used to calculate an IC_{50} value. Comparison of IC_{50} shift between 0 and 30 min pre-incubation without NADPH and 30 min pre-incubation with NADPH was used to measure if the inhibition was time- or NADPH-dependent.

IC_{50} and Inhibition Percentage at Highest Tenapanor Concentration Against CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A

Enzyme	Pre-incubation	IC_{50} (μmol/L)	Inhibition Percentage (%)
CYP1A2	0 min	NI	7.04
	30 min without NADPH	NI	−4.95
	30 min with NADPH	>10.0[a]	17.2
CYP2B6	0 min	NI	3.47
	30 min without NADPH	NI	−1.08
	30 min with NADPH	NI	12.9
CYP2C8	0 min	>10.0[a]	19.5
	30 min without NADPH	>10.0[a]	14.6
	30 min with NADPH	>10.0[a]	16.8
CYP2C9	0 min	NI	7.85
	30 min without NADPH	NI	5.02
	30 min with NADPH	NI	7.93
CYP2C19	0 min	NI	4.37
	30 min without NADPH	NI	−5.86
	30 min with NADPH	NI	8.94

Table continues

Study Title: Evaluation of the Time-Dependent Inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by Tenapanor (Continued)			Test Article: Tenapanor hydrochloride
IC_{50} and Inhibition Percentage at Highest Tenapanor Concentration Against CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A (Continued)			
Enzyme	Pre-incubation	IC_{50} (μmol/L)	Inhibition Percentage (%)
CYP2D6	0 min	>10.0[a]	15.4
	30 min without NADPH	NI	11.3
	30 min with NADPH	>10.0[a]	16.1
CYP3A	0 min	5.92	62.9
	30 min without NADPH	8.41	54.8
	30 min with NADPH	6.82	59.3
For CYP3A, there was no significant shift in the IC_{50} following a 30 min pre-incubation without NADPH compared to a 30 min preincubation with NADPH (8.41 μmol/L and 6.82 μmol/L, respectively), indicating Tenapanor is not a time-dependent inhibitor of CYP3A. Conclusion: Tenapanor had no time-dependent inhibition effect on CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 or CYP3A.			

NI=No inhibition

a: When the inhibition effect was less than 50%, a T-test was used to determine if there was significant inhibition relative to vehicle. If there was a significant difference ($p<0.05$) between the top concentration and the vehicle control, the IC_{50} value was reported as >top concentration.

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Assessment of the Induction Potential of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 by AZ13792925 Using Plateable Cryopreserved Human Hepatocytes		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No		Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0704-CYP Induction
Study System:	Cryopreserved human hepatocytes from 3 Donors	
Type of Study:	CYP Induction	

Method: The aim of this study was to investigate the potential of M1 at 0.03-10 μmol/L induce the expression of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 in plated cultures of cryopreserved human hepatocytes from 3 donors. Positive controls of CYP1A2 (omeprazole), CYP2B6 (phenobarbital) and CYP3A4 (rifampicin), a negative control, and a vehicle control were included in the study. All incubations were conducted for 72 hours with addition of fresh media containing M1 or control articles every 24 hour. The induction of each CYP by the control compounds or M1 was evaluated by measuring the mRNA expression of each CYP by quantitative reverse transcription PCR. A mean 4-fold maximum increase in mRNA of each CYP isoform was established as the cutoff to determine whether M1 is an inducer of CYP enzymes.

Induction Potential of M1 Based on mRNA Expression

Donor	Compounds	CYP Isoform	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}	F2 (μmol/L)
RMH	M1	CYP1A2	NC	NC	NC
		CYP2B6	0.919 ± 0.273	2.55 ± 0.344	NC
		CYP3A4	0.988 ± 0.230	4.29 ± 0.286	1.00
	Omeprazole	CYP1A2	3.21 ± 0.491	6.74 ± 0.311	NC
	Phenobarbital	CYP2B6	NC	>12.4	NC
	Rifampicin	CYP3A4	NC	14.4 ± 1.64	NC
UYL	M1	CYP1A2	NC	NC	NC
		CYP2B6	NC	>4.27	0.766
		CYP3A4	1.24 ± 0.109	15.9 ± 0.592	0.565
	Omeprazole	CYP1A2	NC	>19.9	NC
	Phenobarbital	CYP2B6	NC	>16.3	NC
	Rifampicin	CYP3A4	0.361 ± 0.0958	16.4 ± 0.581	NC
OFA	M1	CYP1A2	NC	NC	NC
		CYP2B6	NC	NC	NC
		CYP3A4	1.01 ± 0.277	1.91 ± 0.117	NC
	Omeprazole	CYP1A2	NC	>11.8	NC
	Phenobarbital	CYP2B6	NC	>20.3	NC
	Rifampicin	CYP3A4	NC	>13.3	NC

Data represents mean ± SD, n=3.
F2=Concentration leading to a 2-fold increase of the baseline levels

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Assessment of the Cytochrome P450 Inhibition Potential of AZ13792925 in Human Liver Microsomes for CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4/5				Test Article: M1 (AZ13792925)	
GLP Compliant: No				Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0323	
Study System:	Human liver microsomes				
Type of Study:	CYP Inhibition				
Method: The rate of formation of isoform-specific metabolites derived from marker substrates was assessed when incubated with metabolically competent pooled human liver microsomes in the presence of NADPH. These activities were measured under linear conditions for time and protein concentration using the following marker substrates in a single cocktail: phenacetin (CYP1A2), diclofenac (CYP2C9), S-mephenytoin (CYP2C19), bufuralol (CYP2D6) and midazolam (CYP3A) at concentrations equivalent to their K_m values respectively.					
Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes: IC_{50} (μmol/L)					
Assay Reference	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A
M1 (0.1-30 μmol/L)					
M1	NI	NI	>30[a] (34.4%)[b]	2.37	0.120
M1	NI	NI	>30[a] (23.5%)[b]	1.41	0.0650
M1	NI	NI	>30[a] (44.0%)[b]	2.06	0.0587
Mean	NI	NI	>30[a] (33.9% ± 10.3%)[b]	1.95 ± 0.492	0.0813 ± 0.0338
Reference Inhibitor					
α-Naphthoflavone	0.00364	NA	NA	NA	NA
Sulphaphenazole	NA	0.553	NA	NA	NA
N-3-Benzylnirvanol	NA	NA	0.199	NA	NA
Quinidine	NA	NA	NA	0.0267	NA
Ketoconazole	NA	NA	NA	NA	0.0243
Conclusion: M1 inhibited the metabolism of bufuralol by CYP2D6 and midazolam by CYP3A with an IC_{50} value of 1.95 μmol/L and 0.0813 μmol/L, respectively. Inhibition of CYP2C19 activity (33.9%) by M1 was observed at the highest concentrations tested, but not sufficient to determine an IC_{50} (IC_{50}>30 μmol/L). There was no evidence that M1 inhibited CYP1A2 or CYP2C9 over the concentration range tested (0.1-30 μmol/L).					

IC_{50} value of M1: mean ± SD, n=3.
IC_{50} value of reference inhibitor: mean, n=3.
NI=No Inhibition
a: Inhibition of CYP2C19 activity by M1 was observed at 30 μmol/L, but not sufficient to determine an IC_{50}.
b: Inhibition percentage of CYP2C19 activity at the highest concentration tested (30 μmol/L)

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Assessment of the Cytochrome P450 Inhibition Potential of AZ13792925 in Human Liver Microsomes for CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2E1 and CYP3A4/5			Test Article: M1 (AZ13792925)		
GLP Compliant: No			Study No.: ADME-[redacted]0417		
Study System:	Human liver microsomes				
Type of Study:	CYP Inhibition				
Method: The rate of formation of isoform-specific metabolites derived from marker substrates was assessed when incubated with metabolically competent pooled human liver microsomes in the presence of NADPH. These activities were measured under linear conditions for time and protein concentration using the following marker substrates in a single cocktail: coumarin (CYP2A6), bupropion (CYP2B6), amodiaquine (CYP2C8), chlozoxazone (CYP2E1) and nifedipine (CYP3A) at concentrations equivalent to their K_m values.					
Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes: IC_{50} (μmol/L)					
Assay Reference	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2E1	CYP3A
M1 (0.1-30 μmol/L)					
AZ13702997-001	NI	>30[a] (15.1%)[b]	NI	NI	0.0856
AZ13702997-001	NI	>30[a] (24.5%)[b]	NI	NI	0.107
AZ13702997-001	NI	>30[a] (27.1%)[b]	NI	NI	0.138
Mean	NI	>30[a] (22.2% ± 6.30%)[b]	NI	NI	0.110 ± 0.0262
Reference Inhibitor					
Tranylcypromine	0.0906	NA	NA	NA	NA
Quercetin	NA	34.0	5.97	16.0	NA
Ketoconazole	NA	NA	NA	NA	0.00894
Conclusions: M1 inhibited the metabolism of nifedipine by CYP3A with an IC_{50} value of 0.110 μmol/L. Inhibition of CYP2B6 activity (22.2%) by M1 was observed at 30 μmol/L, but not sufficient to determine an IC_{50} (IC_{50}>30 μmol/L). There was no evidence that M1 inhibited CYP2A6, CYP2C8 or CYP2E1 over the concentration range tested (0.1-30 μmol/L).					

IC_{50} value of M1: mean ± SD, n=3.
IC_{50} value of reference inhibitor: mean, n=3.
NI=No Inhibition
a: Inhibition of CYP2B6 activity by M1 was observed at 30 μmol/L, but not sufficient to determine an IC_{50}.
b: Inhibition percentage of CYP2B6 activity at the highest concentration tested (30 μmol/L)

7 薬物動態試験：代謝（続き）

Study Title: Evaluation of the Time-Dependent Inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by AZ13792925		Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No		Study No.: ADME-[redacted]1207-CYP TDI
Study System:	Human liver microsomes	
Type of Study:	CYP Inhibition (time-dependent)	

Method: The objective of this study was to evaluate the time-dependent inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by M1 in human liver microsomes. The known substrates (phenacetin, bupropion, amodiaquine, diclofenac, S-mephenytoin, bufuralol and midazolam were used for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A, respectively) were converted by CYP isozymes to the corresponding metabolites and detected by UPLC/MS/MS. A decrease in the formation of metabolites by M1 at six concentrations (0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 and 10 μmol/L) compared to the vehicle control was used to calculate an IC_{50} value. Comparison of IC_{50} shift between 0 min and 30 min pre-incubation without NADPH and 30 min pre-incubation with NADPH was used to measure if the inhibition was time- or NADPH-dependent.

IC_{50} and Inhibition Percentage at the Highest M1 Concentration Against CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A

Enzyme	Pre-incubation	IC_{50} (μmol/L)	Inhibition Percentage at the Top Concentration (%)
CYP1A2	0 min	>10.0[a]	10.5
	30 min without NADPH	NI	11.1
	30 min with NADPH	NI	13.4
CYP2B6	0 min	NI	5.71
	30 min without NADPH	NI	3.19
	30 min with NADPH	NI	3.14
CYP2C8	0 min	>10.0[a]	11.8
	30 min without NADPH	NI	−2.47
	30 min with NADPH	NI	10.2
CYP2C9	0 min	NI	1.47
	30 min without NADPH	NI	4.45
	30 min with NADPH	NI	−1.95
CYP2C19	0 min	>10.0[a]	−9.94
	30 min without NADPH	NI	−2.38
	30 min with NADPH	>10.0[a]	4.10

Table continues

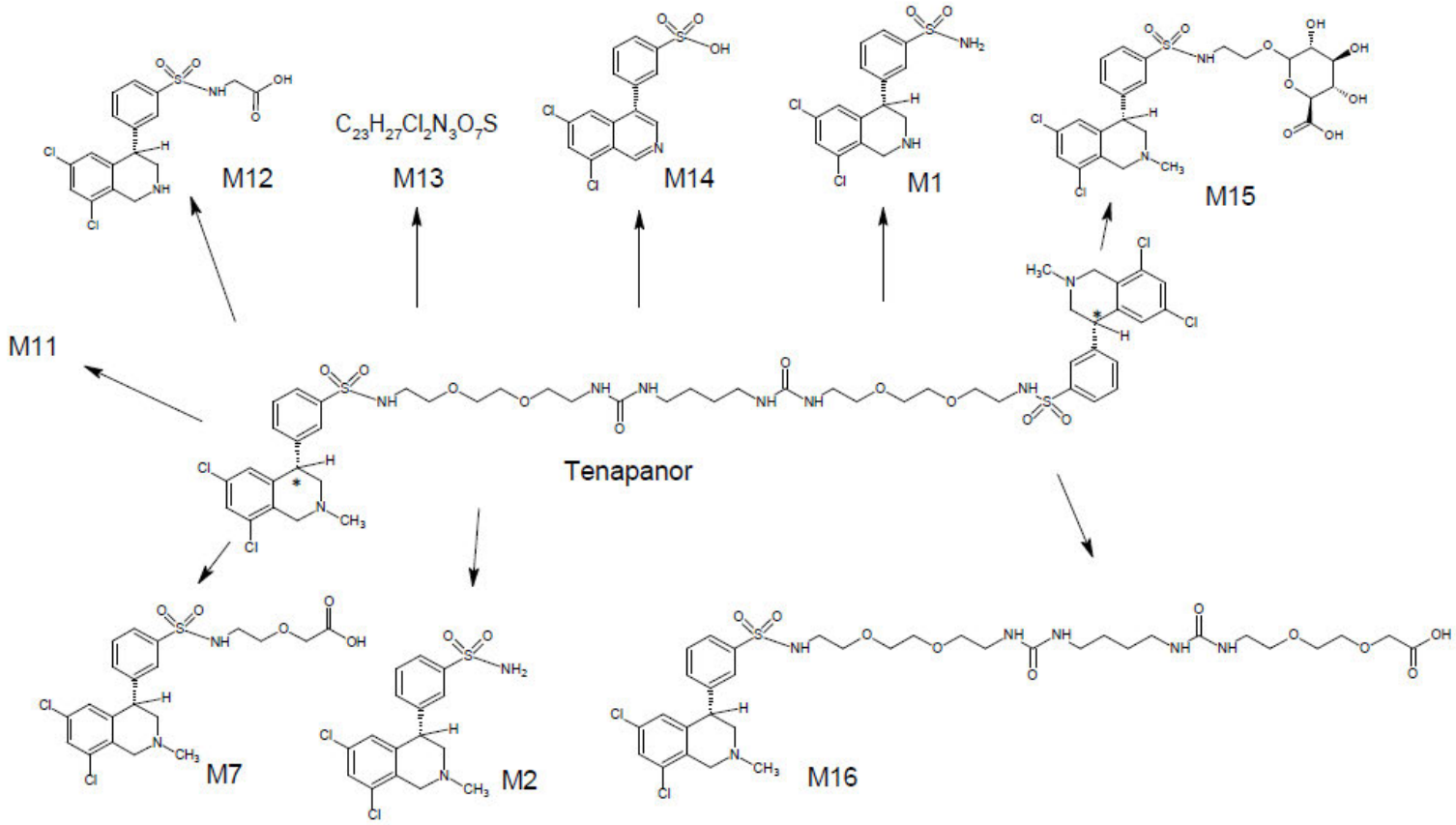
Study Title: Evaluation of the Time-Dependent Inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A by AZ13792925 (Continued)		Test Article: M1 (AZ13792925)	
IC_{50} and Inhibition Percentage at the Highest M1 Concentration Against CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A			
Enzyme	Pre-incubation	IC_{50} (μmol/L)	Inhibition Percentage at the Top Concentration (%)
CYP2D6	0 min	>10.0[a]	11.0
	30 min without NADPH	NI	5.86
	30 min with NADPH	>10.0[a]	8.27
CYP3A	0 min	4.70	63.3
	30 min without NADPH	4.84	63.1
	30 min with NADPH	5.28	62.9
For CYP3A, there was no significant shift in the IC_{50} following a 30 min pre-incubation without NADPH compared to a 30 min preincubation with NADPH (4.84 μmol/L and 5.28 μmol/L, respectively), indicating M1 is not a time-dependent inhibitor of CYP3A. Conclusion: M1 has no time-dependent inhibition effect on CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A.			

NI=No inhibition

a: When inhibition was <50%, a T-test was used to determine if there was significant inhibition relative to vehicle. If there was a significant difference ($p<0.05$) between the top concentration and the vehicle control, the IC_{50} value was reported as >top concentration.

8 薬物動態試験：ヒトにおける推定代謝経路

被験物質：^{14}C-KHK7791 及び KHK7791
試験報告書番号：[redacted]381-38



* indicates the position of ^{14}C-labelling.

9 薬物動態試験：排泄

Study Title: Quantitative Determination of RDX5791 Levels in a 72-hour Collection of Feces after a Single Dose in Sprague-Dawley Rats			Test Article: Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
GLP Compliant: No			Study No.: RDX5791-PK-02
Species:	Rat, Sprague Dawley		
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3		
Feeding Condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	1% propylene glycol in water		
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Dose (mg/kg):	0.1		
Sample:	Feces		
Analyte:	Tenapanor		
Assay:	LC/MS/MS		
Additional Information: Sprague Dawley male rats (n=3) were administered 0.1 mg/kg Tenapanor hydrochloride (10 mL/kg) and placed into metabolic cages with ad libitum access to food and water. Feces were collected from animals from 0-72 hours after dosing. The levels of Tenapanor in feces were quantitatively determined using LC/MS/MS. Drug levels were interpolated from a standard curve and corrected for dilution and total fecal matter recovered. Results were reported as the percentage of dosed Tenapanor recovered.			
Fecal Recovery (%) of Tenapanor in a 72-hour Fecal Collection after Oral Dosing			
72 hours Recovery of Tenapanor	Rat 7	Rat 8	Rat 9
Replicate 1	106.3	93.2	92.5
Replicate 2	85.3	97.5	88.3
Replicate 3	76.6	96.2	108.7
Replicate 4	76.5	96.3	81.0
Replicate 5	92.2	93.4	86.1
Replicate 6	94.9	84.5	112.3
Replicate 7	109.5	88.2	96.9
Replicate 8	90.8	88.7	87.0
Replicate 9	102.7	84.4	88.4
Replicate 10	102.8	82.7	82.8
Mean ± SD	93.8 ± 11.8	90.5 ± 5.5	92.4 ± 10.6
Overall Mean ± SD	92.2 ± 1.6		

Ten replicate samples were obtained from each rat fecal sample.

9 薬物動態試験：排泄（続き）

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-10.00
Species:	Rat, Sprague Dawley
Study Design: Male rats were administered nominal doses of 1.0 mg/kg (Absorption and Distribution Study) and 0.3 mg/kg (Excretion/Mass Balance Study) of ^{14}C-Tenapanor hydrochloride as a single, bolus oral dose. Tissue distribution in male rats was evaluated at specified times through 168 (Long Evans) or 72 (Sprague Dawley) hours postdose. Excretion and mass balance of the administered radioactivity were assessed in Sprague Dawley male rats (n=6) by evaluating urine and feces at specified intervals through 168 hours postdose, and in bile, urine, and feces collected at specified intervals through 120 hours postdose. Blood, bile, urine, and feces were analyzed for total radioactivity by LSC. Tissue distribution of radioactivity was evaluated by QWBA. Radioactivity concentrations were expressed as ng equivalents of ^{14}C -Tenapanor/g (ng eq/g).	
Excretion/Mass Balance Studies	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3 (Non-cannulated rats), M/3/ (Bile duct-cannulated rats)
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Acidified reverse osmosis water, pH 3.5
Method of Administration:	Oral (gavage)
Radionuclide:	^{14}C-Tenapanor hydrochloride
Dose:	0.3 mg (27.6 and 27.8 μCi/kg for excretion and mass balance study, respectively)
Sample:	Bile (mass balance study only), Urine, Feces and Carcasses
Analyte:	^{14}C Radioactivity
Assay:	LSC

Table continues

Study Title: Absorption, Distribution, Excretion, and Pharmacokinetics of ^{14}C-RDX5791 Following Oral Administration to Rats (Continued)	Test Article: ^{14}C-Tenapanor hydrochloride (^{14}C-RDX5791·2HCl)

Additional Information:

Group	Number of Male Animals		Dose Route	Target Dose Level (mg/kg)	Target Dose Volume (mL/kg)	Samples Collected
	LE	SD				
1	-	27	Oral	1.0	6.7	Blood
2	10	8		1.0	6.7	Blood and Carcasses for QWBA
3	-	3		0.3	10	Urine, Feces and Carcasses
4	-	3 BDC		0.3	10	Bile, Urine, Feces and Carcasses

BDC=Bile duct cannulated; LE=Long Evans; SD=Sprague Dawley; Notes: The dose ranged from 90.7 to 94.2 μCi/kg for Groups 1 and 2, and between 27.6 and 27.8 μCi/kg for Groups 3 and 4
-: NA

Study Design: For Group 1, three animals/time point were sacrificed via exsanguination (cardiac puncture) under isoflurane anesthesia at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 2, one male Long Evans animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 168 and 504 hours postdose. One male Sprague Dawley animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours postdose. For Group 3 urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 168 hours postdose. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 168 hours postdose. For Group 4, urine was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose. The weight of each sample was recorded. Feces were collected in plastic containers surrounded by dry ice at 24-hour intervals through 120 hours postdose. Bile was collected in plastic containers surrounded by dry ice at 0-2, 2-4, 4-8 and 8-24 hours postdose, and at 24-hour intervals through 120 hours postdose.

Cumulative Percent of Radioactive Dose in Urine, Feces, and Cage Rinse in Non-Cannulated Sprague Dawley Rats (Group 3)

Sample/Time point	Urine/0-168 hours	Feces/0-168 hours	Cage/0-144 hours
% radioactive dose	0.335 ± 0.114	122 ± 1.88	0.120 ± 0.157

Cumulative Percent of Radioactive Dose in Urine, Feces, and Cage Rinse in Bile Duct-Cannulated Sprague Dawley Rats (Group 4)

Sample/Time point	Urine/0-120 hours	Feces/0-120 hours	Bile/0-120 hours	Cage/0-96 hours
% radioactive dose	1.78 ± 2.36	95.3 ± 40.4	2.51 ± 0.367	6.12 ± 8.27

Data represents mean ± SD, n=3.

10 薬物動態試験：排泄−胆汁中−

Excretion of Tenapanor in bile was evaluated in urine, feces and bile excretion study using bile duct-cannulated rats after oral single administration of 0.3 mg/kg of ^{14}C-Tenapanor hydrichloride. Bilirary excretion of ^{14}C-Tenapanor hydrichloride-derived radioactivity was minimal accounting for 2.51% of the administered radioactivity. Refer to Section 9, Study No.: RDX5791-PK-10.00.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用

Study Title: Evaluation of Tenapanor as a Potential BCRP Substrate in Caco-2 Cells				Test Article: Tenapanor hydrochloride			
GLP Compliant: No				Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0825-BCRP Substrate			
Type of Study:	BCRP Substrate						
Method: The apical-to-basolateral (AP-to-BL) and basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of Tenapanor in transport buffer (HBSS containing 25 mmol/L HEPES, pH 7.4) was measured across Caco-2 cell monolayers in the presence and absence of the BCRP inhibitor, novobiocin (30 μmol/L). Incubations were performed at approximately 37°C for 120 min, with functionality of the test system confirmed using 5 μmol/L rosuvastatin as a positive control substrate. Propranolol (5 μmol/L) was used as a negative control. Transport of 10 μmol/L Tenapanor and control compound was determined by quantifying the substrate concentration in the incubation medium (transport buffer) of the donor compartment at the beginning of the incubation period, and both donor and receiver compartments at the end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability coefficient (P_{app}). All incubations were performed in triplicate and the integrity of the cell monolayers was confirmed using Lucifer yellow, a marker of paracellular permeability.							
Permeability Results of Tenapanor in Caco-2 Cells							
Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP		
Tenapanor	Without inhibitor	<0.0336[a]	1.05 ± 0.0264	<92.7[a]	87.5 ± 4.02	>30.8[a]	NC
	30 μmol/L novobiocin	<0.0346[a]	1.10 ± 0.0287	<94.9[a]	86.5 ± 1.01	>31.5[a]	
Conclusion: Tenapanor is not a substrate of human BCRP.							

HBSS= Hanks' balanced salt solution

HEPES=4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acidData expressed as mean ± SD, n=3.

a: The concentration of receiver was below the lower limit of quantitation (<20 nmol/L).

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Evaluation of Tenapanor as a Potential Human P-glycoprotein Substrate in MDCKII-MDR1 Cells	Test Article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0825-P-gp Substrate
Type of Study:	P-gp Substrate

Method: The apical-to-basolateral (AP-to-BL) and basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of Tenapanor in transport buffer (HBSS containing 25 mmol/L HEPES, pH 7.4) was measured across MDCKII-MDR1 cell monolayers in the presence and absence of the P-gp inhibitor, zosuquidar (10 µmol/L). The AP to BL and BL to AP transport of Tenapanor in transport buffer was also measured across MDCKII cell monolayers in the absence and presence of zosuquidar to assess whether any efflux was mediated by human P-gp and not by endogenous canine P-gp. Incubations were performed at approximately 37°C for 120 min, with functionality of the test system confirmed using 5 µmol/L digoxin as a positive control substrate. Propranolol (5 µmol/L) was used as a negative control. Transport of 10 µmol/L Tenapanor and 5 µmol/L control compound were determined by quantifying the substrate concentration in the incubation medium (transport buffer) of the donor compartment at the beginning of the incubation period, and both donor and receiver compartments at the end of the incubation period. Data were used to calculate the apparent permeability coefficient (P_{app}). All incubations were performed in triplicate and the integrity of the cell monolayers was confirmed using Lucifer yellow, a marker of paracellular permeability.

Permeability Results of Tenapanor in MDCKII-MDR1 Cells

Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)	Net Flux Ratio
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP			
Tenapanor	Without inhibitor	<0.0333[a]	0.384 ± 0.0473	<91.3[a]	87.9 ± 5.10	>10.7[a]	NC	NC
	10 µmol/L zosuquidar	0.381 ± 0.0458	0.728 ± 0.103	91.8 ± 6.64	89.1 ± 5.41	1.91 ± 0.0573		

Permeability Results of Tenapanor in MDCKII Cells

Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP		
Tenapanor	Without inhibitor	0.0595 ± 0.0225	0.790 ± 0.0199	85.0 ± 4.08	86.1 ± 8.02	14.5 ± 4.73	83.5
	10 µmol/L zosuquidar	0.408 ± 0.0214	0.975 ± 0.0297	81.4 ± 5.00	78.4 ± 2.84	2.39 ± 0.0559	

Conclusion: These data suggest that Tenapanor is not a substrate of human P-gp.

HBSS= Hanks' balanced salt solution
HEPES=4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
Data expressed as mean ± SD, n=3.
a: The Tenapanor concentration in the receiver compartment (AP to BL) was below the limit of quantitation (<1 nmol/L).

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Evaluation of Tenapanor as a Potential Substrate of OATP1B1 and OATP1B3 in HEK293 Cells			Test Article: Tenapanor hydrochloride	
GLP Compliant: No			Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Substrate	
Type of Study:	OATP1B1 and OATP1B3 Substrate			
Method: The uptake of each substrate was evaluated in HEK293 cells over-expressing human OATP1B1 or OATP1B3, and in mock HEK293 cells in the presence and absence of an inhibitor of each transporter. Pre-incubations were performed at approximately 37°C for 15 min with inhibitor or the equivalent volume of solvent. Incubations were performed at approximately 37°C for 2 min with inhibitor (or the equivalent volume of solvent) and Tenapanor (10 μmol/L) (or positive control substrate). The concentration of Tenapanor (or positive control substrate) was determined by UPLC/MS/MS. A BCA Kit was used to determine the protein content of each sample. The uptake rate of the substrate was calculated by the substrate concentration, the concentration of protein, and the incubation time. The positive controls for OATP1B1 and OATP1B3 was estradiol-17β-glucuronide (10 μmol/L). The inhibitor for OATP1B1 and OATP1B3 was rifampicin SV (10 μmol/L).				
Uptake Results of Tenapanor in HEK293 Cells Over-expressing Human OATP1B1 or OATP1B3				
Transporter	Inhibitor	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)	Reduction (%)	Uptake Ratio
OATP1B1	10 μmol/L rifampicin SV	36.4 ± 4.05	13.9	0.934
	Without inhibitor	35.1 ± 4.34		1.09
OATP1B3	10 μmol/L rifampicin SV	33.1 ± 2.89	16.2	1.12
	Without inhibitor	29.6 ± 1.78		1.34
Uptake Results of Tenapanor in Mock HEK293 Cells				
Transporter	Inhibitor	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)		
OATP1B1	10 μmol/L rifampicin SV	38.9 ± 3.16		
	Without inhibitor	32.3 ± 2.38		
OATP1B3	10 μmol/L rifampicin SV	29.5 ± 5.28		
	Without inhibitor	22.1 ± 0.982		
Conclusions: These results indicate that Tenapanor is not a substrate of either human solute-linked carrier (SLC) transporter OATP1B1 or OATP1B3.				

Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Evaluation of AZ13792925 as a Potential BCRP Substrate in Caco-2 Cells				Test Article: M1 (AZ13792925)			
GLP Compliant: No				Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0824-BCRP Substrate			
Type of Study:	BCRP Substrate						
Method: The apical-to-basolateral (AP-to-BL) and basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of M1 in transport buffer (HBSS containing 25 mmol/L HEPES, pH 7.4) was measured across Caco-2 cell monolayers in the presence and absence of the BCRP inhibitor, novobiocin (30 μmol/L). Incubations were performed at approximately 37°C for 120 min, with functionality of the test system confirmed using 5 μmol/L rosuvastatin as a positive control substrate. Propranolol (5 μmol/L) was used as a negative control. Transport of 5 μmol/L M1 and control compound was determined by quantifying the substrate concentration in the incubation medium (transport buffer) of the donor compartment at the beginning of the incubation period, and both donor and receiver compartments at the end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability coefficient (P_{app}). All incubations were performed in triplicate and the integrity of the cell monolayers was confirmed using Lucifer yellow, a marker of paracellular permeability.							
Permeability Results of M1 in Caco-2 Cells							
Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP		
M1	Without inhibitor	14.4 ± 0.696	10.4 ± 0.353	50.8 ± 0.906	62.2 ± 0.928	0.718 ± 0.0444	2.16
	30 μmol/L novobiocin	15.5 ± 1.03	10.8 ± 0.0558	54.6 ± 1.94	70.2 ± 1.80	0.703 ± 0.0457	
Conclusion: These results indicate that M1 is not a substrate of human BCRP.							

HBSS= Hanks' balanced salt solution
HEPES=4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Evaluation of AZ13792925 as a Potential Human P-glycoprotein Substrate in MDCKII-MDR1 Cells	Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0824-P-gp Substrate
Type of Study:	P-gp Substrate

Method: The apical-to-basolateral (AP-to-BL) and basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of M1 in transport buffer (HBSS containing 25 mmol/L HEPES, pH 7.4) was measured across MDCKII-MDR1 cell monolayers in the presence and absence of the P-gp inhibitor, verapamil (100 µmol/L). The AP-to-BL and BL-to-AP transport of M1 in transport buffer was also measured across MDCKII cell monolayers in the absence and presence of verapamil to assess whether any efflux was mediated by human P-gp and not by endogenous canine P-gp. Incubations were performed at approximately 37°C for 120 min, with functionality of the test system confirmed using 5 µmol/L digoxin as a positive control substrate. Propranolol (5 µmol/L) was used as a negative control. Transport of 5 µmol/L M1 and control compound were determined by quantifying the substrate concentration in the incubation medium (transport buffer) of the donor compartment at the beginning of the incubation period, and both donor and receiver compartments at the end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability coefficient (P_{app}). All incubations were performed in triplicate and the integrity of the cell monolayers was confirmed using Lucifer yellow, a marker of paracellular permeability.

Permeability Results of M1 in MDCKII-MDR1 Cells

Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)	Net Flux Ratio
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP			
M1	Without inhibitor	11.0 ± 0.756	26.4 ± 2.27	67.2 ± 3.97	69.8 ± 0.498	2.39 ± 0.105	74.3	2.57
	100 µmol/L verapamil	24.1 ± 0.694	14.8 ± 0.617	70.7 ± 1.49	74.1 ± 2.45	0.615 ± 0.0375		

Permeability Results of M1 in MDCKII Cells

Compound	Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Recovery (%)		Efflux Ratio	Reduction (%)
		AP to BL	BL to AP	AP to BL	BL to AP		
M1	Without inhibitor	10.1 ± 0.299	9.39 ± 1.04	55.2 ± 1.39	61.5 ± 2.32	0.931 ± 0.0769	−13.4
	100 µmol/L verapamil	16.4 ± 1.37	17.2 ± 1.65	74.0 ± 1.36	73.0 ± 2.68	1.06 ± 0.189	

Conclusion: These results indicate that M1 is a weak substrate of human P-gp.

HBSS= Hanks' balanced salt solution
HEPES=4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Evaluation of AZ13792925 as a Potential Substrate of OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2K in HEK293 Cells	Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0824-SLC Substrate
Type of Study:	OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2-K Substrate

Method: The uptake of each substrate was evaluated in HEK293 cells over-expressing human OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 or MATE2-K and mock (sham transfected) HEK293 cells in the presence and absence of an inhibitor of each transporter. Pre-incubations were performed at approximately 37°C for 15 min with inhibitor or the equivalent volume of solvent except transporter MATE1 and MATE2-K for 20 min. Incubations were performed at approximately 37°C for 2 min with inhibitor (or the equivalent volume of solvent) and M1 (5 µmol/L) (or positive control substrate). The concentration of M1 (or positive control substrate) was determined by LC/MS/MS. A BCA Kit was used to determine the protein content of each sample. The uptake rate of the substrate was calculated by the substrate concentration, the concentration of protein, and the incubation time. The positive controls for OAT1, OAT3, and OCT2 were para-aminohippurate (10 µmol/L), estrone-3-sulfate (10 µmol/L), and metformin (100 µmol/L), respectively. The positive control for MATE1 and MATE2-K was tetraethylammonium (30 µmol/L). The inhibitor for OAT1 and OAT3 was probenecid (100 µmol/L), the inhibitor for OCT2 was verapamil (100 µmol/L), and the inhibitor for MATE1 and MATE2-K was pyrimethamine (1 µmol/L).

Uptake Results of M1 in HEK293 Cells and HEK293 Cells Over-expressing Human OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 or MATE2-K

Transporter	Inhibitor	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)[a]		Reduction (%)	Uptake Ratio
		HEK293 Cells	HEK293 Cells Over-expressing Human OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 or MATE2-K		
OAT1	100 µmol/L probenecid	1331 ± 92.1	1493 ± 92.2	−3.65	1.12
	Without inhibitor	1225 ± 77.5	1326 ± 199		1.08
OAT3	100 µmol/L probenecid	1215 ± 35.0	1167 ± 27.3	7.42	0.960
	Without inhibitor	1201 ± 19.6	1246 ± 15.2		1.04
OCT2	100 µmol/L verapamil	1308 ± 102	1192 ± 167	−7.34	0.912
	Without inhibitor	1284 ± 213	1091 ± 56.8		0.849
MATE1	1 µmol/L pyrimethamine	1253 ± 108	1177 ± 77.8	9.92	0.940
	Without inhibitor	1227 ± 122	1280 ± 94.9		1.04
MATE2-K	1 µmol/L pyrimethamine	1253 ± 108	1218 ± 49.0	1.84	0.972
	Without inhibitor	1227 ± 122	1216 ± 246		0.991

Conclusion: These results indicate that M1 is not a substrate of human SLC transporters OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 or MATE2-K.

a: Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of AZD1722 as an Inhibitor of the Human Efflux Transporter BCRP in BCRP-MDCK Cells		Test Article: Tenapanor hydrochloride (AZD1722)		
GLP Compliant: No		Study No.: [redacted]TRUKP1		
Type of Study: BCRP Inhibition				
Method: The unidirectional (basolateral-to-apical) transport of cladribine was assessed with a series of concentrations of Tenapanor (1, 3, 10, 30, 100 and 300 μmol/L) and Ko143 (a known inhibitor of BCRP) using BCRP-MDCK cell monolayers. BCRP mediated drug transport was determined by using polarized BCRP-MDCK cell monolayers seeded onto polyethylene terephthalate filter membranes (surface area=1.13 cm^2) of 12-transwell plates. In the cladribine interaction assay, the BL-to-AP apparent permeability (P_{app}) of a fixed concentration of the probe substrate cladribine was determined in the presence of a range of concentrations of Tenapanor (1-300 μmol/L), present on both the apical and basolateral sides of the monolayer. The degree of inhibition of BCRP mediated cladribine transport was determined. Each concentration of Tenapanor was investigated in triplicate trans-wells. Functionality of the test system was confirmed using Ko143 (10 μmol/L) as positive control inhibitor. Lucifer yellow permeability and trans-epithelial electrical resistance values were measured in all experiments to assess cell monolayer integrity.				
Corrected P_{app} (BL-to-AP) of Cladribine and Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of Tenapanor or Ko143				
Treatment		Corrected P_{app} (BL to AP) of Cladribine ($\times 10^{-6}$ cm/s)[a]	Percentage Control Activity	Percentage Inhibition
Vehicle		16.4	100	-
Tenapanor	1 μmol/L	14.2	86.1	13.9
	3 μmol/L	15.4	93.4	6.56
	10 μmol/L	15.9	97.0	3.04
	30 μmol/L	15.8	96.1	3.91
	100 μmol/L	19.5	119	0
	300 μmol/L	13.1	79.7	20.3
Positive Control	10 μmol/L Ko143	0	0	100

a: The corrected P_{app} was obtained with the following equation: Corrected P_{app} (BL-to-AP) = P_{app} (BL-to-AP) – $P_{app, control\ inhibitor}$ (BL-to-AP)

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of the Human P-gp (P-glycoprotein, ABCB1) Inhibition Potential of AZ13667691 (AZD1722) in MDCKII-MDR1 Cells	Test Article: Tenapanor (AZ13667691, AZD1722)
GLP Compliant: No	Study No.: Pgp inhib_[redacted]_AZ13667691

Type of Study: P-gp Inhibition

Method: The potential for Tenapanor (AZD1722) to inhibit human P-gp transport across confluent monolayers of MDCKII-MDR1 cells was assessed by measuring the basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of the probe substrate [^{3}H]-digoxin in the absence and presence of a range of concentrations of Tenapanor, 0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L. Experiments were performed at approximately 37°C for 90 min, with functionality of the test system being confirmed using verapamil (1, 3, 10, 30, 100 and 300 µmol/L) as positive control inhibitor. Vehicle control incubations were also performed that contained probe substrate only and the equivalent volume of solvent vehicle (DMSO) used for the test compound. Transport of the probe substrate was determined by measuring total radioactivity of the incubation medium in both donor (basolateral) and receiver (apical) compartments at the beginning and end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability (P_{app}) and % inhibition of BL to AP transport. All incubations were performed in triplicate on one occasion and integrity of the cell monolayers was confirmed using the marker Lucifer yellow.

P_{app} (BL-to-AP) of [^{3}H]-digoxin and Percentage Transported and Percentage Inhibition in the Absence and Presence of Tenapanor or verapamil

Treatment		P_{app} (BL-to-AP) of [^{3}H]-digoxin ($\times 10^{-6}$ cm/s)[a]	Percentage Transported	Percentage Inhibition
Vehicle		16.0 ± 3.2	100.0	NA
Tenapanor	0.3 µmol/L	13.2 ± 1.1	76.7	23.3
	1 µmol/L	17.0 ± 1.1	108.3	−8.3
	3 µmol/L	16.5 ± 1.4	104.2	−4.2
	10 µmol/L	15.5 ± 1.2	95.8	4.2
	30 µmol/L	18.0 ± 4.9	116.7	−16.7
	100 µmol/L	34.9 ± 2.7	257.5	−157.5
Positive Control	100 µmol/L verapamil	4.0 ± 0.4	0.0	100.0

Summary of the IC_{50} Values Determined for Inhibition of [^{3}H]-digoxin Transport

Compound	Apparent IC_{50} (µmol/L)
Tenapanor	No Inhibition
Verapamil	6.4

NA=Not applicable
a: Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: In Vitro Evaluation of Tenapanor as a Potential Inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3		Test Article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No		Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]0825-SLC Inhibition
Type of Study:	OATP1B1 and OATP1B3 Inhibition	
Method: The uptake of each substrate was evaluated in HEK293 cells over-expressing human OATP1B1 or OATP1B3, in the presence of Tenapanor (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 and 10 μmol/L) and the IC_{50} value of Tenapanor was determined. Pre-incubations were performed at approximately 37°C for 15 min with the positive control inhibitor or Tenapanor. Incubations were performed at approximately 37°C for 2 or 5 min (for OATP1B1 or OATP1B3, respectively) with the positive control inhibitor or Tenapanor and with substrate. Vehicle control incubations were also performed that contained only substrate and the equivalent volume of solvent (1%, v/v DMSO) used for the inhibitor. The concentration of substrate was determined by LC/MS/MS. A BCA Kit was used to determine the protein content for each well. The uptake rate of the substrate in SLC transporter over-expressing HEK293 cells was calculated by the substrate concentration, the concentration of protein and the incubation time. The positive control for OATP1B1 and OATP1B3 was rifampicin SV, tested at the following concentrations: 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 and 10 μmol/L. The substrate for OATP1B1 and OATP1B3 was estradiol-17β-glucuronide, used at 5 or 10 μmol/L, respectively. Conclusions: The inhibition of OATP1B1 mediated transport of estradiol-17β-glucuronide by Tenapanor was observed over the concentration range 0.1 to 10 μmol/L. The IC_{50} value was 0.658 μmol/L. Functionality of OATP1B1 within the test system was confirmed using the positive control inhibitor, rifampicin SV, and the IC_{50} value was 0.142 μmol/L. The inhibition of OATP1B3 mediated transport of estradiol-17β-glucuronide by Tenapanor was observed over the concentration range 0.3 to 10 μmol/L. The IC_{50} value was 1.43 μmol/L. Functionality of OATP1B3 within the test system was confirmed using the positive control inhibitor, rifampicin SV, and the IC_{50} value was 0.192 μmol/L.		

Table continues

Study Title: In Vitro Evaluation of Tenapanor as a Potential Inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 (Continued)				Test Article: Tenapanor hydrochloride			
Transport of Estradiol-17β-glucuronide by OATP1B1							
In the Presence and Absence of Rifampicin SV				In the Presence and Absence of Tenapanor			
Test Compound and Concentration	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)[a]	% Control Activity	% Inhibition	Test Compound and Concentration	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)[a]	% Control Activity	% Inhibition
Vehicle (no inhibitor)	95.1 ± 5.55	100	0.00	Vehicle (no inhibitor)	97.8 ± 8.6	100	0.00
0.01 μmol/L Rifampicin SV	89.6 ± 4.72	93.6	6.39	0.01 μmol/L Tenapanor	99.9 ± 2.11	102	−2.39
0.03 μmol/L Rifampicin SV	81.2 ± 3.71	83.9	16.1	0.03 μmol/L Tenapanor	98.6 ± 7.10	101	−0.931
0.1 μmol/L Rifampicin SV	66.8 ± 5.81	67.4	32.6	0.1 μmol/L Tenapanor	84.2 ± 6.20	84.8	15.2
0.3 μmol/L Rifampicin SV	28.7 ± 0.32	23.4	76.6	0.3 μmol/L Tenapanor	79.4 ± 4.21	79.4	20.6
1 μmol/L Rifampicin SV	11.1 ± 0.671	3.08	96.9	1 μmol/L Tenapanor	38.4 ± 6.26	33.6	66.4
3 μmol/L Rifampicin SV	12.1 ± 2.31	4.20	95.8	3 μmol/L Tenapanor	19.5 ± 2.89	12.4	87.6
10 μmol/L Rifampicin SV	8.43 ± 1.17	0.00	100	10 μmol/L Tenapanor	12.3 ± 1.92	4.28	95.7
Transport of Estradiol-17β-glucuronide by OATP1B3							
In the Presence and Absence of Rifampicin SV				In the Presence and Absence of Tenapanor			
Test Compound and Concentration	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)[a]	% Control Activity	% Inhibition	Test Compound and Concentration	Uptake Rate (pmol/mg protein/min)[a]	% Control Activity	% Inhibition
Vehicle (no inhibitor)	21.4 ± 0.449	100	0.00	Vehicle (no inhibitor)	21.1 ± 0.690	100	0.00
0.01 μmol/L Rifampicin SV	25.4 ± 0.168	120	−19.9	0.01 μmol/L Tenapanor	22.6 ± 2.16	108	−7.65
0.03 μmol/L Rifampicin SV	19.3 ± 1.84	89.9	10.1	0.03 μmol/L Tenapanor	21.4 ± 0.973	102	−1.87
0.1 μmol/L Rifampicin SV	17.8 ± 0.621	82.5	17.5	0.1 μmol/L Tenapanor	23.1 ± 0.942	110	−10.1
0.3 μmol/L Rifampicin SV	6.18 ± 0.348	25.8	74.2	0.3 μmol/L Tenapanor	19.5 ± 0.904	92.4	7.61
1 μmol/L Rifampicin SV	2.22 ± 0.555	6.49	93.5	1 μmol/L Tenapanor	19.0 ± 0.191	90.0	10.0
3 μmol/L Rifampicin SV	1.37 ± 0.138	2.33	97.7	3 μmol/L Tenapanor	1.09 ± 0.135	0.983	99.0
10 μmol/L Rifampicin SV	0.893 ± 0.0959	0.00	101	10 μmol/L Tenapanor	0.929 ± 0.0563	0.178	99.8

a: Data expressed as mean ± SD, n=3.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: In Vitro Evaluation of Tenapanor as an Inhibitor of Human PEPT1 and OATP2B1, and Enalapril as a Substrate of Human OATP2B1	Test Article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No	Study No.: RDX5791-PK-22
Type of Study:	PEPT1 and OATP2B1 Inhibition (Tenapanor), OATP2B1 Substrate (Enalapril)

Method: In vitro evaluation of Tenapanor as an inhibitor of human PEPT1 and OATP2B1, and Enalapril as a substrate of human OATP2B1 was conductied using HEK293 cells and CHO cells expressing OATP2B1 and PEPT1, respectively. For inhibition assessment, cells were pre-incubated for 30 minutes in the respective assay buffer in the presence of Tenapanor (0.003-2.5 μmol/L for OATP2B1; 0.007-5 μmol/L for PEPT1). Then the probe substrate was added in a fresh dosing solution of Tenapanor and following the incubation time, the reaction was stopped by washing the cells with ice-cold buffer. The cells were lysed with 0.1 mol/L sodium hydroxide (NaOH) solution and the accumulation of the probe substrate in the cells was determined by liquid scintillation counting. [^{3}H]-labeled and unlabeled glycylsarcosine (total 4 μmol/L) for PEPT1 and [^{3}H]-labeled and unlabeled estrone-3-sulfate (total 1 μmol/L) for OATP2B1 were used as positive control substrates. For substrate assessment, cells were incubated for 10 minutes in the assay buffer in the presence of Enalapril (0.1-100 μmol/L) with and without the reference inhibitor (rifamycin SV). Following the incubation time, the reaction was stopped by washing the cells with ice-cold buffer. The cells were lysed with methanol:buffer mixture (2:1) and the accumulation of Enalapril in the cells was determined by mass spectrometry.

Effect of Tenapanor on the OATP2B1-mediated Transport of Estrone-3-sulfate

Compound	Concentration (μmol/L)		Transporter specific accumulation (cpm)	Relative transporter specific acculmulation (% of control)	Relative inhibition (%)
	Nominal	NSB corrected			
Tenapanor	2.500	1.331	308.33 ± 15.51	6.36 ± 0.76	94
	0.833	0.156	474.67 ± 105.70	9.79 ± 2.43	90
	0.278	0.019	1299.00 ± 152.84	26.80 ± 4.29	73
	0.093	0.004	3623.00 ± 363.34	74.74 ± 11.04	25
	0.031	0.001	4106.67 ± 196.60	84.71 ± 10.05	15
	0.010	NA	4851.33 ± 315.16	100.08 ± 12.66	0
	0.003	NA	4809.00 ± 280.05	99.20 ± 12.22	1
DMSO	0		4847.67 ± 525.98	100.00 ± 15.34	0
Rifamaycin SV (Reference inhibitor)	100		109.33 ± 13.43	2.14 ± 0.32	98
DMSO	0		5118.00 ± 457.19	100.00 ± 12.63	0

Table continues

Study Title: In Vitro Evaluation of Tenapanor as an Inhibitor of Human PEPT1 and OATP2B1, and Enalapril as a Substrate of Human OATP2B1 (Continued)	Test Article: Tenapanor hydrochloride

Effect of Tenapanor on the PEPT1-mediated Transport of Glycylsarcosine

Compound	Concentration (μmol/L)		Transporter specific accumulation (cpm)	Relative transporter specific acculmulation (% of control)	Relative inhibition (%)
	Nominal	NSB corrected			
Tenapanor	5.000	2.1395	140.67 ± 16.15	100.96 ± 17.84	−1
	1.667	0.1496	111.67 ± 8.58	80.14 ± 12.40	20
	0.556	0.0154	139.00 ± 15.06	99.76 ± 17.21	0
	0.185	0.0042	133.33 ± 20.70	95.69 ± 19.64	4
	0.062	0.0022	131.33 ± 13.05	94.26 ± 15.75	6
	0.021	0.0015	129.00 ± 15.32	92.58 ± 16.60	7
	0.007	0.0012	116.67 ± 5.60	83.73 ± 11.94	16
DMSO	0		139.33 ± 18.72	100.00 ± 19.00	0
Tyrosine-phenylalanine (Reference inhibitor)	200		19.67 ± 6.73	17.77 ± 6.17	82
DMSO	0		110.67 ± 6.43	100.00 ± 8.22	0

Inhibition of OATP2B1 and PEPT1 by Tenapanor

Test Article	Transporter	Maximum % inhibition	IC_{50} (μmol/L)
Tenapanor	OATP2B1	94	0.01
	PEPT1	No interaction observed	NA

Conclusions: Tenapanor inhibited a probe substrate transport via OATP2B1 (IC_{50}=0.01 μmol/L), but not via PEPT1 (IC_{50} >5 μmol/L).

Table continues

Study Title: In Vitro Evaluation of Tenapanor as an Inhibitor of Human PEPT1 and OATP2B1, and Enalapril as a Substrate of Human OATP2B1 (Continued)	Test Article: Tenapanor hydrochloride

Accumulation of Enalapril in OATP2B1 Expressing and Control Cells measured in the Uptake Transporter Substrate Assay in the Presence and Absence of an Inhibitor (Rifamycin SV)

Compound	Concentration (μmol/L)	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
Enalapril	100	964.87 ± 11.63	316.53 ± 41.74	648.34 ± 43.33	3.05
	+rifamycin SV	691.34 ± 29.46	377.27 ± 12.52	314.07 ± 32.01	1.83
	10	57.08 ± 14.63	19.40 ± 0.62	37.68 ± 14.64	2.94
	+rifamycin SV	42.56 ± 8.07	33.07 ± 2.46	9.49 ± 8.44	1.29
	1	9.75 ± 0.55	3.02 ± 0.65	6.72 ± 0.85	3.22
	+rifamycin SV	4.57 ± 1.21	2.91 ± 0.43	1.66 ± 1.28	1.57
	0.1	0.95 ± 0.16	0.40 ± 0.03	0.54 ± 0.17	2.35
	+rifamycin SV	0.56 ± 0.14	0.39 ± 0.18	0.18 ± 0.23	1.46

Accumulation of Enalapril was greater in the OATP2B1-expressing cells than in the control cells. Transporter-specific fold accumulation was >2 at all concentrations, indicating active accumulation of Enalapril, under the conditions tested. The highest fold accumulation was 3.22 at 1 μmol/L, which in the presence of the reference inhibitor (100 μmol/L rifamycin SV) was reduced to 1.57.
Conclusions: Enalapril is a substrate of human OATP2B1.

cpm=Counts per minute
NSB=Non-specific binding
Data expressed as mean ± SD, n=3.
Concentrations were corrected according to the result of the NSB assays at those concentration points where the loss of the Tenapanor during the NSB experiment was more than 20%.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of the Human BCRP (Breast Cancer Resistance Protein, ABCG2) Inhibition Potential of AZ13792925 in Caco-2 Cells	Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No	Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0413
Type of Study:	BCRP Inhibition

Method: The potential of M1 to inhibit BCRP (ABCG2) was assessed by determining the basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of the probe substrate rosuvastatin was measured across Caco-2 cell monolayers in the absence and presence of a range of concentrations of M1 (0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L) in order to determine an apparent IC_{50} value. Experiments were performed at approximately 37°C for 2 hours, with functionality of the test system being confirmed using novobiocin (0.1, 0.3, 1, 3, 10 and 30 µmol/L) as positive control inhibitor. Transport of the probe substrate was determined by measuring total radioactivity of the incubation medium in both donor (basolateral) and receiver (apical) compartments at the beginning and end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability (P_{app}) and percentage inhibition of BL-to-AP transport. All incubations were performed in triplicate on one occasion and integrity of the cell monolayers was confirmed using the marker Lucifer Yellow.

Transport of Rosuvastatin in the Absence and Presence of M1 and the Positive Control Inhibitor

Test Compound and Concentration	P_{app} BL-to-AP ($\times 10^{-6}$ cm/s)[a]	% Transported	% Inhibition
Vehicle (no inhibitor)	11.0 ± 0.0379	100	NA
30 µmol/L Novobiocin	4.00 ± 0.521	0.00	100
0.3 µmol/L M1	10.0 ± 0.137	85.5	14.5
1 µmol/L M1	9.63 ± 0.0319	80.3	19.7
3 µmol/L M1	9.31 ± 0.253	75.8	24.2
10 µmol/L M1	8.78 ± 0.214	68.2	31.8
30 µmol/L M1	8.49 ± 0.165	64.1	35.9
100 µmol/L M1	6.23 ± 0.0562	31.8	68.2

Apparent IC_{50}: M1=43.7 µmol/L, Novobiocin=1.21 µmol/L

Conclusion: M1 inhibits rosuvastatin transport via human BCRP with an apparent IC_{50} value of 43.7 µmol/L.

Data expressed as mean ± SD, n=3.

a:Corrected for passive permeability component (P_{app} in presence of 30 µmol/L novobiocin when BCRP completely inhibited)

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of the Human P-gp (P-glycoprotein, ABCB1) Inhibition Potential of AZ13792925 in MDCKII-MDR1 Cells			Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No			Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0412
Type of Study:	P-gp Inhibition		
Method: The basolateral-to-apical (BL-to-AP) transport of the probe substrate digoxin was measured across MDCKII-MDR1 cell monolayers in the absence and presence of a range of concentrations of M1 (0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L) to determine an apparent IC_{50} value. Experiments were performed at approximately 37°C for 120 min, with functionality of the test system being confirmed using verapamil (0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L) as positive control inhibitor. Vehicle control incubations were also performed that contained probe substrate only and the equivalent volume of solvent vehicle (0.5%, v/v DMSO) used for the test compound. Transport of the probe substrate was determined by quantifying the digoxin concentration in the incubation medium of donor (basolateral) compartment at the beginning of the incubation period, and both donor (basolateral) and receiver (apical) compartments at the end of the incubation period. The data were used to calculate the apparent permeability (P_{app}) and % inhibition of BL-to-AP transport. All incubations were performed in triplicate on one occasion and integrity of the cell monolayers was confirmed using the marker Lucifer Yellow.			
Transport of Digoxin in the Absence and Presence of M1 and the Positive Control Inhibitor			
Test Compound and Concentration	P_{app} BL-to-AP ($\times 10^{-6}$ cm/s)[a]	% Transported	% Inhibition
Vehicle (no inhibitor)	12.6 ± 0.571	100	NA
100 µmol/L Verapamil	1.58 ± 0.0863	0.00	100
0.3 µmol/L M1	11.9 ± 0.168	94.0	6.00
1 µmol/L M1	11.5 ± 0.940	90.0	10.0
3 µmol/L M1	11.5 ± 0.641	90.0	10.0
10 µmol/L M1	10.0 ± 0.380	76.8	23.2
30 µmol/L M1	8.71 ± 0.177	64.7	35.3
100 µmol/L M1	6.66 ± 0.207	46.0	54.0
Apparent IC_{50}: M1=80.7 µmol/L; Verapamil=3.56 µmol/L Conclusion: M1 inhibits digoxin transport via human P-gp with an apparent IC_{50} value of 80.7 µmol/L.			

Data expressed as mean ± SD, n=3.

a: Corrected for passive permeability component (P_{app} in presence of 100 µmol/L verapamil when P-gp completely inhibited)

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of AZ13792925 (AZD1722 M1) as an Inhibitor of the Human Transporter Proteins OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 and MATE2K and OCT2	Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No	Study No.: [redacted]TRUKP1S4
Type of Study:	Inhibition of OAT1, OAT3, OCT2, OATP1B3, MATE1 and MATE2-K
Method: Cells were pre-incubated with the test article or vehicle-containing buffer alone, then incubated with the probe substrate in the presence and absence of the test article or a positive inhibitor in a humidified incubator. Cells were lysed with 400 µL 75% acetonitrile containing an internal standard corresponding to the probe substrate. An aliquot of lysate was used for analysis of probe substrate concentration. Para-aminohippurate, furosemide, metformin, atorvastatin, metformin and metformin were used as probe substrates for OAT1, OAT3, OCT2, OATP1B3, MATE1 and MATE2-K, respectively.	
OAT1 Inhibition: Net Influx Rate of para-Aminohippurate, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Probenecid	

Concentration of M1 (µmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)	% Control transport activity	% Inhibition
0 (Vehicle control)	261	100	0.00
0.3	226	86.5	13.5
1	233	89.1	10.9
3	233	89.2	10.8
10	220	84.4	15.6
30	210	80.2	19.8
100	161	61.7	38.3
100 µmol/L probenecide (Positive inhibitor)	26.4	10.1	89.9

Table continues

Study Title: Assessment of AZ13792925 (AZD1722 M1) as an Inhibitor of the Human Transporter Proteins OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 and MATE2K and OCT2 (Continued)				Test Article: M1 (AZ13792925)	
OAT3 Inhibition: Net Influx Rate of Furosemide, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Probenecid					
Concentration of M1 (μmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)		% Control transport activity		% Inhibition
0 (Vehicle control)	35.1		100		0.00
0.3	45.3		129		−29.1
1	45.1		128		−28.3
3	44.0		125		−25.4
10	42.8		122		−21.8
30	45.7		130		−30.1
100	32.5		92.6		7.38
100 μmol/L probenecid (Positive inhibitor)	0.736		2.10		97.9
OCT2 Inhibition[a]: Net Influx Rate of Metformin, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Imipramine					
Concentration of M1 (μmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)		% Control transport activity[c]		% Inhibition	
	Assay Batch 1	Assay Batch 2	Assay Batch 1	Assay Batch 2	Assay Batch 1	Assay Batch 2
0 (Vehicle control)	657	512	100	100	0.00	0.00
0.3	637	514	97.0	100	3.01	−0.336
1	667	589	102	115	−1.58	−15.0
3	831	721	127	141	−26.5	−40.8
10	844	647	128	126	−28.5	−26.3
30	721	437	110	85.2	−9.73	14.8
100	185	133	28.2	26.0	71.8	74.0
300 μmol/L imipramine (Positive inhibitor)	−0.919	8.70	0 (−0.140)[b]	1.70	100 (100.1)[b]	98.3

Table continues

a: The OCT2 inhibition assessment was conducted twice, once in Assay Batch 1 and once in Assay Batch 2.

b: The number in the parenthesis is the calculated value. Negative values of % of control transport activity are reported and treated as zero; accordingly, % of inhibition values are treated as 100.

c: At lower concentrations (1, 3, 10 and 30 μmol/L for Assay Batch 1, and 1, 3 and 10 μmol/L for Assay Batch 2), M1 showed apparent stimulation towards OCT2 (>100% control transport activity); at higher concentrations (100 μmol/L for Assay Batch 1, and 30 and 100 μmol/L for Assay Batch 2), M1 showed inhibition towards OCT2.

Study Title: Assessment of AZ13792925 (AZD1722 M1) as an Inhibitor of the Human Transporter Proteins OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 and MATE2K and OCT2 (Continued)		Test Article: M1 (AZ13792925)	
OATP1B3 Inhibition: Net Influx Rate of Atorvastatin, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Rifamycin SV			
Concentration of M1 (μmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)	% Control transport activity	% Inhibition
0 (Vehicle control)	4.65	100	0.00
0.3	4.94	106	−6.26
1	4.41	94.9	5.12
3	4.21	90.6	9.36
10	3.17	68.3	31.7
30	3.08	66.3	33.7
100	1.73	37.2	62.8
10 μmol/L rifamycin SV (Positive inhibitor)	0.181	3.90	96.1
MATE1 Inhibition: Net influx rate of Metformin, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Cimetidine			
Concentration of M1 (μmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)	% Control transport activity	% Inhibition
0 (Vehicle control)	1019	100	0.00
0.3	944	92.7	7.34
1	936	91.8	8.19
3	931	91.3	8.66
10	661	64.8	35.2
30	306	30.1	69.9
100	21.3	2.09	97.9
100 μmol/L cimetidine (Positive inhibitor)	16.6	1.63	98.4

Table continues

Study Title: Assessment of AZ13792925 (AZD1722 M1) as an Inhibitor of the Human Transporter Proteins OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 and MATE2K and OCT2 (Continued)		Test Article: M1 (AZ13792925)	
MATE2-K Inhibition: Net Influx Rate of Metformin, Percentage Control Activity and Percentage Inhibition in the Absence or Presence of M1 or Pyrimethamine			
Concentration of M1 (μmol/L)	Net influx rate (pmol/minute/mg protein)	% Control transport activity	% Inhibition
0 (Vehicle control)	118	100	0.00
0.3	127	107	−7.48
1	128	109	−8.97
3	122	103	−3.24
10	96.2	81.7	18.3
30	48.3	41.0	59.0
100	5.08	4.32	95.7
1 μmol/L pyrimethamine (Positive inhibitor)	9.43	8.01	92.0

Apparent IC_{50} Values of Inhibition of Uptake and Efflux Transporters by M1

Test Article	Transporter	Apparent IC_{50} (μmol/L)
M1	OAT1	>100
	OAT3	No inhibition
	OCT2	ND[a]
	OATP1B3	46.7
	MATE1	16.9
	MATE2-K	21.9

Conclusions: M1 inhibited probe substrate transport via OAT1 (IC_{50}>100 μmol/L), OCT2 (IC_{50} was not determined), OATP1B3 (IC_{50}=46.7 μmol/L), MATE1 (IC_{50}=16.9 μmol/L), and MATE2-K (IC_{50}=21.9 μmol/L), but not via OAT3.

ND=Not determined

a: At lower concentrations (1, 3, 10 and 30 μmol/L for Assay Batch 1, and 1, 3 and 10 μmol/L for Assay Batch 2), M1 showed apparent stimulation towards OCT2 (>100% control transport activity); at higher concentrations (100 μmol/L for Assay Batch 1, and 30 and 100 μmol/L for Assay Batch 2), M1 showed inhibition towards OCT2.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of the OATP1B1 (SLCO1B1) Inhibition Potential of AZ13792925 in HEK293-OATP1B1 Cells			Test Article: M1 (AZ13792925)
GLP Compliant: No			Study No.: ADME-[redacted]-[redacted]-[redacted]0415
Type of Study:	OATP1B1 Inhibition		
Method: HEK293 cells expressing human hepatic transporter (OATP1B1) were incubated with Estradiol 17β glucuronide (nominal concentration 5 µmol/L) in the presence of reference inhibitors (Rifamycin SV at 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 3 and 10 µmol/L or Erythromycin at 1, 3, 10, 30, 100, 300 µmol/L) and M1 at nominal concentrations of 0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L. Estradiol 17β glucuronide uptake was determined from cell lysates from HEK293-OATP1B1 cells and quantified using HPLC-MS/MS.			
Inhibition of Uptake of Estradiol 17β glucuronide into HEK293-OATP1B1 Cells by M1			
Test Compound	Concentration (µmol/L)	OATP1B1 activity (% Control)[a]	% Inhibition
Vehicle (1% DMSO)	NA	100 ± 2.77	NA
M1	0.3	99.3 ± 1.69	0.737
	1	98.8 ± 4.21	1.16
	3	93.2 ± 13.6	6.84
	10	72.1 ± 5.00	27.9
	30	47.0 ± 3.73	53.0
	100	8.92 ± 1.22	91.1
Conclusion: M1 inhibited OATP1B1 mediated transport of Estradiol 17β glucuronide, with an apparent IC_{50} value of 23.6 µmol/L.			

Data expressed as mean ± SD, n=3.
a: Corrected for passive uptake (uptake in the presence of 10 µmol/L rifamycin SV when OATP1B1 is completely inhibited)

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: In Vitro Studies of RDX5791/AZD1722 and Ion Binders										Test Article: Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
GLP Compliant: No										Study No.: RDX5791-PK-011.00
Type of Study:	Drug interaction study with sevelamer carbonate and sodium polystyrene sulfonate and calcium-based phosphate binders.									
Method: Interactions of Tenapanor at 1 and 10 µmol/L concentrations with sevelamer carbonate (Renvela), calcium carbonate (Caltrate), calcium acetate (PhosLo), and the potassium binder sodium polystyrene sulfonate (Kayexalate) were evaluated in a buffer designed to simulate the intestinal environment, including enzymes, protein, fatty acids, phospholipids, and taurocholic acid.										
Summary of In Vitro Binding Studies of Tenapanor and Various Mineral Binders										
Binder		% Tenapanor Bound								
		Experiment 1[a]		Experiment 2[b]		Experiment 4[b]		Experiment 5[b]		
		1 µmol/L	10 µmol/L	1 µmol/L	10 µmol/L	1 µmol/L	10 µmol/L	50 µmol/L	100 µmol/L	200 µmol/L
Sevelamer Carbonate (1.6 mg/mL)	Replicate 1	73	79	82	87	76	86	73	71	86
	Replicate 2	74	79	83	87	77	86	72	72	86
Sevelamer Carbonate (3.2 mg/mL)	Replicate 1	-	-	-	-	-	-	79	75	86
	Replicate 2	-	-	-	-	-	-	79	75	86
Calcium Carbonate (2.4 mg/mL)	Replicate 1	NDB	NDB	NDB	NDB	NDB	6	-	-	-
	Replicate 2	NDB	NDB	NDB	NDB	NDB	NDB	-	-	-
Calcium Acetate (1 mg/mL)	Replicate 1	NDB	NDB	NDB	NDB	NDB	8	-	-	-
	Replicate 2	NDB	NDB	NDB	NDB	NDB	8	-	-	-
Sodium Polystyrene Sulfonate (10 mg/mL)	Replicate 1	27	28	29	26	26	30	-	-	-
	Replicate 2	28	27	29	26	27	32	-	-	-
Conclusions: Under the in vitro test conditions evaluated, Tenapanor appeared to interact with sevelamer carbonate and sodium polystyrene sulfonate, but not calcium-based phosphate binders. The in vivo relevance of these results is unknown.										

a: Fatty acid concentrations were 24 mmol/L and contained only saturated fatty acids.

b: Fatty acid concentrations were 9 mmol/L and contained a mixture of saturated and unsaturated fatty acids.

NDB=No detectable binding. The assay error is estimated at 5% so if % Bound was ≤5, the result was reported NDB.

Note: Experiments 1-4 used Tenapanor concentrations of 1 and 10 µmol/L. Experiment 5 used Tenapanor concentrations of 50, 100 and 200 µmol/L. Due to a technical error during Experiment 3, the data are not reported here.

11 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用（続き）

Study Title: Assessment of in vitro adsorption rates of KHK7791 to phosphate binders		Test article: Tenapanor hydrochloride
GLP Compliant: No		Study No.: d-[redacted]-0161
Type of Study:	Drug interaction study with phosphate binders	
Method:	Interactions of Tenapanor hydrochloride at 1 μg/mL concentrations with sevelamer carbonate, ferric citrate hydrate, sucroferric oxyhydroxide, bixalomer, sevelamer hydrochloride and lanthanum carbonate hydrate were evaluated in gastrointestinal simulated fluid.	
Adsorption Rates of Tenapanor to Each Phosphate Binder		
Phosphate binders	Phosphate binder concentration[a]	Adsorption rate (%)
Sevelamer carbonate	1.58 mg/mL	37.9
Ferric citrate hydrate	1.37 mg/mL	42.3
Sucroferric oxyhydroxide	0.681 mg/mL	8.61
Bixalomer	1.97 mg/mL	4.46
Sevelamer hydrochloride	1.98 mg/mL	50.3
Lanthanum carbonate hydrate	0.515 mg/mL	4.16

a: These concentrations were calculated by dividing maximum dose per medication of phosphate binder by gastric volume (1500 mL). These values represent mean actual concentration of phosphate binder prepared in the study.

12 薬物動態試験：その他の薬物動態試験

<table>
<tr><td colspan="2">Study Title: Pharmacokinetics of Enalapril when Co-Administered with AZD1722</td><td>Test Article: Tenapanor hydrochloride (AZD1722)</td></tr>
<tr><td colspan="2">GLP Compliant: No</td><td>Study No.: RDX5791-PK-012.00</td></tr>
<tr><td>Type of Study:</td><td colspan="2">PK Data Review Study</td></tr>
<tr><td>Species:</td><td colspan="2">5/6th nephrectomized rat (Sprague Dawley), normal rat (Sprague Dawley)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Method: This report summarizes observations from three separate studies.
The first study (RDX5791-EF-08) was not a pharmacokinetic study per se since samples were collected at a single time point several hours after dosing in a study designed to evaluate the efficacy of Tenapanor in a salt-fed rat model of renal insufficiency n=6 analyzed out of 12 per group due to sample availability.
In the second study (680PK), blood was collected from Sprague-Dawley rats (n=3/group) using a jugular catheter at 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours after oral dosing of Tenapnor hydrochloride (1 mg/kg), enalapril (10 mg/kg), or a combination thereof and processed as plasma using K_2EDTA as an anticoagulant.
In a third study (792PK) in 5/6th nephrectomized Sprague-Dawley rats (n=3 in enalapril group; n=4 in enalapril + Tenapanor group) consuming a high salt (4% NaCl) diet for one week, blood was collected from a jugular catheter at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours after oral dosing of Tenapanor hydrochloride (1 mg/kg), enalapril (10 mg/kg), or a combination thereof and processed as plasma using K_2EDTA as an anticoagulant.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Pharmacokinetic Parameter of Enalaprilat</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Animal</td><td colspan="2">Enalaprilat AUC_{0-t} (ng·h/mL)[a]</td></tr>
<tr><td>Enalapril alone</td><td>Co-administered with 1 mg/kg Tenapanor hydrochloride</td></tr>
<tr><td>Normal rats</td><td>2241 ± 22</td><td>1107 ± 22</td></tr>
<tr><td>5/6th nephrectomized rats</td><td>15960 ± 2880</td><td>7530 ± 1310</td></tr>
<tr><td colspan="3">Conclusion: In summary, the plasma AUC_{0-t} of enalaprilat when enalapril (10 mg/kg) was co-administered with Tenapanor hydrochloride (1 mg/kg) was approximately 50% below that of enalaprilat dosed alone. In all studies, the concentration of Tenapanor in plasma was similar whether dosed alone or in combination with enalapril, with most samples exhibiting concentrations below the limit of quantitation (0.5 ng/mL). The results were consistent with the known properties of Tenapanor which indicate it exhibits minimal systemic absorption.</td></tr>
</table>

K_2EDTA=Di-potassium salt of ethylenediaminetetraacetic acid

a: Data represnts mean ± SD, n=3 or 4.