TABLE OF CONTENTS

略語一覧表 6
2.6.4 薬物動態試験の概要文 9
1 まとめ 9
2 分析法 13
2.1 非臨床試験で使用した分析法 13
3 吸収 14
3.1 単回投与による薬物動態 14
3.1.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 14
3.1.2 雄性 Sprague Dawley ラットに単回経口並びに十二指腸内、回腸内及び結腸内投与したときのアコラミジスの吸収部位 14
3.1.3 雌性ウサギに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 15
3.1.4 雄性 CD-1 マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルに単回静脈内及び経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 16
3.1.5 雌雄の Sprague Dawley ラット及びビーグル犬に[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したときの薬物動態 17
3.2 反復投与によるトキシコキネティクス 18
3.2.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 18
3.2.2 ラットに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 19
3.2.3 妊娠ラットに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 20
3.2.4 ラットに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 21
3.2.5 ラットに 13 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 21
3.2.6 ラットに 176 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 22
3.2.7 ラットに 26 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 23
3.2.8 妊娠ウサギに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス 24
3.2.9 イヌに 3 日間反復経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 25
3.2.10 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 25
3.2.11 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス ... 26
3.2.12 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス ... 27
3.2.13 イヌに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス ... 28
3.2.14 イヌに 13 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス . 29
3.2.15 イヌに 39 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス . 29
4 分布 31

4.1 雄性 Sprague Dawley ラットに経口投与したときのアコラミジスの脳内分布 31
4.2 ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの組織分布 31
4.3 Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトにおけるアコラミジスの血漿タンパク結合 32
4.4 胎盤・胎児移行性 32
4.5 Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトにおけるアコラミジスの in vitro 血球移行 32
5 代謝（動物種間の比較） 34
5.1 In vitro 代謝 34
5.1.1 人工胃液中でのアコラミジスの安定性 34
5.1.2 ヒト肝ミクロソーム中でのアコラミジスの in vitro 代謝安定性 34
5.1.3 Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの凍結保存肝細胞におけるアコラミジスの代謝安定性 34
5.1.4 ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞（懸濁液）を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物の同定 35
5.1.5 C57BL/6 マウス及びヒトの肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物の同定 36
5.1.6 アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体の安定性 37
5.2 In vivo 代謝 37
5.2.1 ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの代謝 37
5.2.2 イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの代謝 38
6 排泄 40
6.1 ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの排泄 40
6.2 イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの排泄 40
6.3 乳汁排泄 40
7 薬物動態学的薬物相互作用 41
7.1 雄性ビーグル犬に経口投与したときのアコラミジスの薬物動態に対するオメプラゾール及びペンタガストリンの影響 41
7.2 代謝を介した薬物相互作用 41
7.2.1 チトクローム P450 基質 41
7.2.2 可逆的チトクローム P450 阻害 41
7.2.3 時間依存的及び代謝依存的チトクローム P450 阻害 42
7.2.4 チトクローム P450 誘導 43
7.2.5 UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼフェノタイピング 44
7.2.6 UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ阻害 45
7.3 トランスポーターを介した薬物相互作用 46
7.3.1 Caco-2 細胞におけるアコラミジスの透過及び輸送 46
7.3.2 トランスポーターの基質としての確認 46
7.3.3 トランスポーター阻害 48
7.3.4 代謝物によるトランスポーター阻害 49
8 その他の薬物動態試験 51

8.1 ビーグル犬に経口投与したときのアコラミジスの PK/PD 評価 51
8.2 雄性ビーグル犬にアコラミジスの錠剤又はカプセルを経口投与したときの薬物動態 51
8.3 ビーグル犬に異なる錠剤を経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 51
8.4 ビーグル犬に異なる徐放性製剤を経口投与したときのアコラミジスの薬物動態 52
9 考察及び結論 53
10 参考文献 56

LIST OF TABLES

Table 1: CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに経口投与したときのアコラミジス及びアコラミジス-AG の薬物動態パラメータ（平均値） 14
Table 2: ラットに単回経口並びに十二指腸内、回腸内及び結腸内投与したときの血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ 15
Table 3: 雌性ウサギに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値、N = 3） 16
Table 4: マウス、ラット、イヌ及びサルに静脈内及び経口投与したときのアコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値、N = 3） 17
Table 5: Sprague Dawley ラット及びビーグル犬に[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの総放射能の薬物動態パラメータ 18
Table 6: マウスに 28 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 19
Table 7: ラットに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 20
Table 8: 妊娠ラットに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 20
Table 9: ラットに 4 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 21
Table 10: ラットに 13 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 22
Table 11: ラットに 176 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 23
Table 12: ラットに 26 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 24
Table 13: 妊娠ウサギに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 24
Table 14: イヌに 3 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 25
Table 15: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 26
Table 16: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 27
Table 17: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 28
Table 18: イヌに 4 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 28
Table 19: イヌに 13 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量 29
Table 20: イヌに 39 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量 30
Table 21: ラットに経口投与したときの脳及び脳脊髄液中アコラミジスの曝露量 31
Table 22: 各種動物におけるアコラミジスの血漿タンパク結合 32
Table 23: 各種動物におけるアコラミジスの血液／血漿中濃度比及び血球／血漿中濃度比（平均値） 33
Table 24: ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝安定性 34
Table 25: オメプラゾール又はペンタガストリンの前投与有無によるイヌ血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ 41

Table 26: ヒト肝ミクロソームを用いたヒトCYPに対するアコラミジスの時間依存的及び代謝依存的阻害作用のin vitro評価 43
Table 27: アコラミジス-AGの生成に対する各UGT分子種の寄与率 45
Table 28: 異なる錠剤を経口投与したときのイヌ血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値±SD） 52
Table 29: ラット、イヌ及びヒトにおけるアコラミジス-AGのin vivo曝露量の比較 54

LIST OF FIGURES

Figure 1 ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞（凍結保存）におけるアコラミジスの推定代謝経路 36
Figure 2 ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの推定代謝経路 38
Figure 3 イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの推定代謝経路 39

略語一覧表

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
Acoramidis-AG	acoramidis acylglucuronide	アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体（アコラミジス-AG）
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝、排泄
AMP	adenosine monophosphate	アデノシン一リン酸
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
ATTR-CM	transthyretin amyloidosis cardiomyopathy	トランスサイレチン型心アミロイドーシス
AUC	area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
AUC_{24h}	area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours	時間 0 から投与 24 時間後までの濃度時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the concentration-time curve from time zero to infinity	時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time zero to the last observable concentration	時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点までの濃度時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BDC	bile duct cannulated	胆管カニューレ挿入
BSA	bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_{24}	plasma concentration observed at 24 hours	投与 24 時間後の血漿中濃度
Caco-2	human colon carcinoma cell line	ヒト結腸（又は結腸直腸）腺癌細胞
CL	total body clearance of drug from the plasma	全身クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
C_{max}	maximum plasma (tissue) concentration	最高血漿（組織）中濃度
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
eq	equivalent	当量
F	absolute bioavailability	絶対的バイオアベイラビリティ
F	female	雌
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GD	gestation day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
Gluc	glucuronic acid	グルクロン酸
HB-PS	HEPES-buffered physiological saline	HEPES 緩衝生理食塩水
HBSS	Hanks' balanced salt solution	ハンクス平衡塩類緩衝液
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC/UV	high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection	高速液体クロマトグラフィー-紫外吸光度検出
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IV	intravenously	静脈内投与
K_2-EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt	エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩
$K_{B/P}$	blood: plasma ratio	血液／血漿中濃度比
$K_{E/P}$	erythrocyte partitioning	血球／血漿中濃度比
K_I	the concentration of the inhibitor that	最大不活性化速度の 50%の速度をもた

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
	yields a 50% rate of the maximum inactivation	らす阻害剤の濃度
k_{inact}	maximum inactivation rate constant	最大酵素不活性化速度定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
LC/FT-MS	liquid chromatography-Fourier transform mass spectrometry	液体クロマトグラフィーフーリエ変換質量分析法
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
M	male	雄
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤・毒性化合物排出タンパク
MDCK	Madin Darby canine kidney	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株
MDCK-MDR1	Madin Darby canine kidney expressing multidrug resistance protein 1	多剤耐性タンパク質 1 発現イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株
MF	male/female combined	雌雄合算
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
N	number of animals per group	群当たりの例数
NA	not applicable	該当データなし
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	not calculated	算出せず
ND	not detected	検出されず
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability	みかけの透過係数
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
PHH	primary human hepatocytes	初代ヒト肝細胞
PK	pharmacokinetic	薬物動態
PK/PD	pharmacokinetics/pharmacodynamics	薬物動態／薬力学的作用
PO	orally	経口投与
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
rUGT	recombinant uridine diphosphate glucuronosyltransferase	組換え UGT
SD	standard deviation	標準偏差
SE	standard error	標準誤差
Sf9	*Spodoptera frugiperda* insect cell line	*Spodoptera frugiperda* 細胞株から樹立した細胞株
SGF	simulated gastric fluid	人工胃液
SLC	solute carrier	溶質キャリア
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TTR	transthyretin	トランスサイレチン
UDP	Uridine 5'-diphosphate	ウリジン-5’-二リン酸
UDPGA	uridine 5′-diphospho-glucuronic acid	ウリジン-5’-二リン酸-グルクロン酸
UGT	uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン-5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
V_{max}	maximum velocity	最大反応速度
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

2.6.4　薬物動態試験の概要文

1　まとめ

アコラミジス（ALXN2060 又は AG10）は、トランスサイレチン型心アミロイドーシス（ATTR-CM）の治療薬として開発中の、強力かつ選択性の高い経口の低分子トランスサイレチン（TTR）安定化薬である。アコラミジスは、TTR への特異な結合様式を通じて、疾患抑制性 TTR 遺伝子変異体である T119M の安定化作用（Miller, 2018）を模倣することにより、TTR を安定化させる。

アコラミジスの吸収、分布、代謝、排泄（ADME）及び薬物相互作用（DDI）の可能性を評価するため、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。以下に、in vitro 及び in vivo 試験で得られた重要な所見の概要を示し、全体的な評価を「考察及び結論」の項に示した。

アコラミジスの投与量は、遊離塩基として明記しない限り、塩酸塩としての用量を示す。

アコラミジスの薬物動態（PK）は、雄性 CD-1 マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル、ウサギ（経口投与のみ）及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウス（経口投与のみ）に単回静脈内及び経口投与することにより評価した。静脈内投与したときのアコラミジスの全身クリアランス（CL）は低く、0.0219～0.0613 L/h/kg の範囲であり、定常状態の分布容積（V_{ss}）は 0.392～0.612 L/kg であった。消失半減期（$t_{1/2}$）は比較的長く、5.32～19.4 時間であった。経口投与したときの吸収は速やかであり、最高血漿中濃度（C_{max}）到達時間（t_{max}）は検討した動物種で 0.500～2.67 時間であった。アコラミジスの経口投与後の吸収は良好であり、絶対的バイオアベイラビリティは、マウス、ラット、イヌ及びサルで、それぞれ 30.5%、59.7%、39.5%及び 49.4%であった。

イヌにアコラミジス 200 mg 錠を経口投与したとき、オメプラゾール及びペンタガストリンはアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量に対して有意な影響を示さなかった。Sprague Dawley ラットにアコラミジス（5 mg/kg）を経口、又は十二指腸内、回腸内及び結腸内に投与し、吸収部位を検討した結果、アコラミジスの主要な吸収部位は結腸であった。これよりもわずかに低い程度で胃及び十二指腸でも吸収されたが、回腸では吸収されなかった。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）準拠及び非準拠の毒性試験で、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスを用いて、反復投与後の PK／トキシコキネティクス（TK）を評価した。ラット、イヌ及びマウスにアコラミジスを反復投与したとき、概してアコラミジスの血漿中曝露量に性差は認められなかった（2 倍未満の差）。そして、若干の例外を除いて、アコラミジスの血漿中曝露量は用量増加に伴い概ね用量比例的に増加した。短期間の反復投与後に蓄積は認められなかったが、長期間の反復投与後にラット及びイヌで若干の蓄積が認められた。

GLP 準拠のラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験において、Day 1 と反復投与後の Day 182 の時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点までの濃度時間曲線下面積（AUC_{last}）平均値に基づく代謝物アコラミジス-β-D-グルクロン酸抱合体（アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体［アコラミジス-AG］）の曝露量は、アコラミジスの 24%～42%の範囲であった。GLP 準拠のイヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験では、AUC_{last} 平均値に基づくアコラミジス-AG の曝露量は、Day 1 でアコラミジスの約 15%～60%、Day 273 でアコラミジスの約 28%～70%であった。

アコラミジスの血漿タンパク結合率は検討したすべての動物種で高く、10 µM におけるラット、イヌ、サル及びヒトの血漿タンパク結合率はそれぞれ 97.8%、94.8%、98.8%及び 96.5%であり、50 µM ではそれぞれ 92.3%、86.8%、97.0%及び 96.3%であった。アコラミジスは、ラット、イヌ、

サル及びヒトのいずれに対しても赤血球への親和性が低く、いずれの動物種に対しても濃度依存的な血球移行を示さなかった。アコラミジスは脳に分布せず、Sprague Dawley ラットにアコラミジス 200 mg/kg を経口投与したときの脳ホモジネート及び脳脊髄液（CSF）中のアコラミジス濃度は、血漿中濃度の 1%未満であった。

経口投与後の有色 Long Evans 雄性ラットでの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の組織分布は広範囲に及び、放射能の最高組織中濃度（C_{max}）は、ほとんどの組織で投与 0.5 時間後に観察された。C_{max} が高かった組織は、胆汁及び尿を除き、肝臓、動脈壁、副腎、腎臓（腎皮質を含む）及び胃であった。C_{max} が低かった組織は、脳室周囲器官を除く中枢神経系組織、腹部脂肪、精嚢、鼻甲介及び精巣であった。本試験の全期間を通して、延髄及び臭葉では放射能は検出されなかった。全体的に、検討した組織中に放射能の蓄積や滞留は観察されなかった。さらに本試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は有色ラットのメラニン含有組織と選択的に結合しないことも示唆された。

アコラミジスはラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞とのインキュベーションにより代謝され、サル及びヒトの肝細胞でより速い代謝速度が観察された。ただし、算出した in vitro の固有クリアランス（CL_{int}）値と実際の in vivo での CL 値との間に相関関係は認められなかった。ラット、イヌ及びサルの CL_{int} 値（それぞれ 1.46、0.786 未満及び 4.54 L/h/kg）は、対応する動物の静脈内投与後の CL 値（それぞれ 0.0270、0.0219 及び 0.0423 L/h/kg）よりも高かった。したがって、ヒトの肝細胞とインキュベーションする in vitro 試験系の結果は、実際のヒトの CL 値を過大評価する可能性が考えられる。

ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用いた in vitro 代謝プロファイリングにより、4 時間のインキュベーション後にすべての動物種でアコラミジス-AG が主要な代謝物であることが示された。ヒト特有の代謝物は認められなかった。ラット及びイヌの肝細胞によるアコラミジスの代謝は、ヒトの肝細胞による代謝と定性的に類似していたため、毒性試験用の動物種としてラット及びイヌを選択した。アコラミジス-AG の in vivo での生成は、ラット、イヌ及びヒトの血漿中アコラミジス-AG を定量することにより確認した。さらに、TTR は種を超えて高度に保持されており、アコラミジスはイヌ及びサルの血漿中 TTR をほぼ完全に安定化できることが示されている。

イヌの 39 週間反復投与毒性試験で得られた代謝物アコラミジス-AG の安全域を Table 29 に示す。毒性試験で使用された動物における代謝物アコラミジス-AG の曝露量は、ヒトで確認された曝露量を十分に上回っていた。

その他の副次的代謝経路として、1）一酸化、2）一酸化及びその後のグルクロン酸抱合、3）タウリン抱合、及び 4）グリシン抱合が認められた。別の試験でも同様に、マウスとヒトの肝細胞でアコラミジスの代謝プロファイルは類似しており、アコラミジス-AG が主要代謝物であった。

ラットに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、アコラミジスは広範囲に代謝された。13 種類の代謝物が同定又は明らかにされ、胆汁及び尿中に 8 種類、糞中に 7 種類及び血漿中に 11 種類の代謝物が検出された。グルクロン酸抱合が主な代謝経路であり、酸化及びグリシン抱合は副次的な代謝経路であった。血漿、尿及び糞中の主要成分はアコラミジスであったが、ラットの血漿及び胆汁中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合体であり、次にアシルグルクロン酸抱合体の異性体であった。

同様に、イヌに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、アコラミジスの中程度の代謝が観察された。雌雄のイヌに経口投与したときの血漿、尿及び糞中の主要成分はアコラミジスであったが、循環血中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合

体（アコラミジス-AG）であり、少量ではあるが尿中にも検出された。イヌではグルクロン酸抱合が主要な代謝経路であり、酸化は副次的な代謝経路であった。

反応性の代替指標としてアコラミジス-AG のリン酸緩衝液中の安定性を評価した。その結果、半減期は 161 分であり、アコラミジス-AG は共有結合する可能性は低いと考えられた。

ラットにおける[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は糞中であった。無処置の雄性及び雌性ラットの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 79.0%及び 71.7%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 16.3%及び 24.8%であった。全体的に、無処置のラットに経口投与したときの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、速やかに排泄された。胆管カニューレ挿入（BDC）ラットにおける[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は胆汁中であった。BDC 雄性ラットにおける平均の胆汁、尿及び糞中排泄率は、それぞれ投与量の 80.5%、9.79%及び 5.98%であった。BDC 雄性ラットの排泄試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の排泄に胆汁排泄が大きくかかわっていることが示唆された。

イヌでも同様に、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は糞中であった。雄性及び雌性イヌの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 51.0%及び 66.0%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 34.4%及び 27.8%であった。

ヒト肝ミクロソーム（HLM）を用いたアコラミジスの in vitro 代謝安定性試験及びヒト肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物同定試験において、アコラミジスの代謝にチトクローム P450（CYP）はほとんど関与していないことが示された。HLM を用いて 7 種類の主要なヒト CYP 分子種について検討した結果、アコラミジスは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して 150 μM まで、CYP3A4/5 に対して 1100 μM まで阻害作用を示さなかった。これらの CYP 分子種に対する阻害率は、直接的阻害で 0%～28%であり、50%阻害濃度（IC_{50}）値は算出できなかった。アコラミジスによる CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対する時間依存的又は代謝依存的阻害は認められなかった。一方、アコラミジスをニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下で 30 分間プレインキュベーションした結果、アコラミジスは CYP2C8 及び CYP2C9 の活性をそれぞれ 64%及び 53%減少させ、IC_{50} 値はそれぞれ 76 μM 及び 100 μM であった。CYP2C8 及び CYP2C9 に対するこれらの高い IC_{50} 値が臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。アコラミジスにより 150 μM までの濃度で処理した場合、メッセンジャーRNA（mRNA）の発現量によって測定した CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導は、ほとんど又は全く認められなかった。これらの結果から、アコラミジスは CYP を介した臨床上問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

基質（アコラミジス）の消失反応及び代謝物の生成結果に基づくウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）フェノタイピング試験により、アコラミジス-AG の in vitro での生成には主に UGT1A9 が関与し、UGT2B7 及び UGT1A1 も寄与していることが示された。HLM を用いた検討により、アコラミジスは UGT1A9 の直接的な阻害剤であり（IC_{50} = 150 μM）、UGT1A1 及び UGT2B7 に対しても阻害作用を示した（IC_{50} > 200 μM）。組換え UGT を用いた検討により、アコラミジスは UGT1A9 を直接的に阻害した（IC_{50} = 40 μM）。また、アコラミジスは直接的に UGT1A1 及び UTG2B7 をそれぞれ最大 30%及び 25%阻害し、IC_{50} 値は検討した最高濃度である 150 μM 超であった。以上の結果から、アコラミジスは UGT を介した臨床上問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

アコラミジスは P 糖タンパク（P-gp）を介したジゴキシンの輸送を阻害しなかった（IC_{50} >

100 μM）。

ヒト結腸（又は結腸直腸）腺癌細胞（Caco-2）におけるアコラミジスの A→B 方向のみかけの透過係数（P_{app}）は、アコラミジスの 1、10 及び 50 μM の濃度でそれぞれ $0.04 \pm 0.01 \times 10^{-6}$ cm/s、$0.04 \pm 0.00 \times 10^{-6}$ cm/s 及び $0.07 \pm 0.01 \times 10^{-6}$ cm/s であった。アコラミジスの B→A 方向の P_{app} は、アコラミジスの 1、10 及び 50 μM の濃度でそれぞれ $17.0 \pm 0.20 \times 10^{-6}$ cm/s、$14.0 \pm 0.41 \times 10^{-6}$ cm/s 及び $12.0 \pm 0.33 \times 10^{-6}$ cm/s であり、efflux ratio はそれぞれ 421、347 及び 181 であった。これらの結果から、アコラミジスは排出トランスポーターの基質であることが示された。

トランスポーターを介した薬物相互作用の可能性を評価するため、アコラミジスが有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）1、OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、多剤・毒性化合物排出タンパク（MATE）1、MATE2-K、乳癌耐性タンパク質（BCRP）、P-gp 又は胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）の基質であるか検討した。イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株（MDCK）II を用いた検討によりアコラミジスは OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、P-gp 及び BSEP の基質ではなく、OAT1 及び BCRP の基質であった。したがって、MDCKII 細胞を用いて OAT1 及び BCRP によるアコラミジスの輸送に関してさらに評価した。その結果、OAT1 のミカエリス定数（K_m）値は 28.5 μM、最大反応速度（V_{max}）値は 45.4 pmol/min/cm^2 であったが、BCRP では 100 μM までのアコラミジスでみかけの基質飽和に達しなかったことから、K_m 値及び V_{max} 値は算出できなかった。K_m 値の特定には高濃度（100 μM 超）での評価が必要であることを考慮すると、OAT1 及び BCRP の基質としてのアコラミジスによって臨床的上問題となる薬物相互作用は生じないと考えられる。

ヒト OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、BCRP、P-gp 又は BSEP を介した輸送に対するアコラミジスの阻害作用を評価した。ヒト OCT1、OCT2、OATP1B3、MATE2-K 及び BSEP を介したプローブ基質の輸送に対して有意な阻害作用は認められなかった。一方、OAT1（89.8%）、OAT3（94.2%）、OATP1B1（30.9%）及び MATE1（43.0%）を介した輸送を阻害し、OAT1、OAT3 及び MATE-1 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 1.39、1.26 及び 178 μM であった。OAT1/OAT3 の阻害剤であることが臨床上確認されているプロベネシドと比較すると、アコラミジスは in vitro においてプロベネシドと同程度の阻害剤であり、ヒト OAT3 を介した輸送に対する IC_{50} 値はアコラミジス及びプロベネシドでそれぞれ 1.40 及び 5.69 μM であった。主要代謝物であるアコラミジス-AG も OAT3 を阻害したが、IC_{50} 値は 36.7 μM であり、アコラミジス-AG により臨床上問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

ビーグル犬に同じ用量のアコラミジスを 0.5%メチルセルロース懸濁液及び賦形剤を含まないゼラチンカプセルとして投与したとき、アコラミジスの曝露量は同程度であった。同様に、ビーグル犬にアコラミジスを錠剤として投与した場合と賦形剤を含むカプセルとして投与した場合にアコラミジスの曝露量に有意な差は認められなかった。アコラミジスの 3 種類の錠剤（200 mg 錠、「711 mg コア」錠及び「533 mg コア」錠）についてビーグル犬で評価したところ、200 mg 錠 2 錠、「711 mg コア」錠又は「533 mg コア」錠のいずれかをイヌに投与したときのアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量は類似していた。200 mg 錠は、臨床第 1 相試験（AG10-001、AG10-003、AG10-004、AG10-005）及び第 2 相試験（AG10-201）で使用した。以後の臨床試験（AG10-202 及び AG10-301）では「533 mg コア」錠を使用した。

以下に、in vitro 試験、非臨床 PK／TK、薬物代謝、排泄、及び分布に関する in vivo 試験並びに薬物相互作用試験の成績を示す。

2　分析法

2.1　非臨床試験で使用した分析法

液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS 法）を用いて、PK 及び TK 試験の血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の濃度を測定した。米国食品医薬品局（FDA）（FDA, 2018）及び欧州医薬品庁（EMA）（EMA, 2011）のガイダンスに従って、ラット、イヌ及びウサギを用いた GLP 準拠の重要な毒性試験で使用するため、ラット、イヌ及びウサギ血漿（抗凝固剤：エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩［K_2-EDTA］）中のアコラミジスの分析法を開発し、バリデーションを実施した（ラット、イヌ及びウサギ血漿中アコラミジスのバリデーション報告書は、それぞれ 4005364、4005365 及び 4007882 である）。アコラミジス及び内部標準であるアコラミジス-D_6 を含むラット、イヌ又はウサギ血漿試料（50.0 µL）を除タンパクにより抽出し、分析した。検量線の濃度範囲は、ラット及びイヌの血漿で 0.200～200 µg/mL、ウサギ血漿で 0.240～240 µg/mL であり、試料抽出の当日に作成された検量線（重み $1/x^2$ の線形最小二乗回帰分析）から濃度を算出した。

ラット、イヌ及びウサギを用いた GLP 準拠の重要な慢性毒性試験で使用するため、ラット、イヌ及びウサギ血漿（酸性条件下、抗凝固剤：K_2-EDTA）中のアコラミジス-AG の分析法を開発し、クオリフィケーションを実施した（ラット、イヌ及びウサギ血漿中アコラミジス-AG のクオリフィケーション報告書は、それぞれ 4006588、4006589 及び 4007963 である）。内部標準としてアコラミジス-AG-D_6 を使用した LC-MS/MS 法を開発した。アコラミジス-AG 及び内部標準であるアコラミジス-AG-D_6 を含むラット若しくはイヌの酸性化した血漿試料（20.0 µL）又はウサギの酸性化した血漿試料（50.0 µL）を除タンパクにより抽出し、分析した。検量線の濃度範囲は、ラット血漿で 0.200～200 µg/mL、イヌ及びウサギの血漿で 0.100～100 µg/mL であり、試料抽出の当日に作成された検量線（重み $1/x^2$ の線形最小二乗回帰分析）から濃度を算出した。ISR（Incurred sample reanalysis）は、アコラミジス：8355824（ラット 4 週間 GLP 試験）、8355825（イヌ 4 週間 GLP 試験）及び 8411735（ウサギ胚・胎児発生 GLP 試験）、アコラミジス-AG：20[redacted]1689（ラット 26 週間 GLP 試験）及び 20[redacted]1692（イヌ 39 週間 GLP 試験）の試験で問題なく適合した。

分析法バリデーション／クオリフィケーションに関する結果の概要はモジュール 2.6.5.2 に示す。

ラット及びイヌの血漿、血液及び排泄物中の総放射能（^{14}C）は液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。代謝物の構造の同定は、液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS 法）を使用して実施した（ラット：8355837、イヌ：8355830）。

3 吸収

3.1 単回投与による薬物動態

3.1.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

GLP 準拠の RasH2（001178-W [hemizygous], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic）マウスを用いた 26 週間がん原性試験をサポートするため、雄性マウス 12 匹／群に 25、50、100 及び 200 mg/kg（それぞれ 1、2、3 及び 4 群）のアコラミジス（0.5%メチルセルロース中）を経口投与した（8409786 試験）。3 匹／群／時点の動物から投与前並びに投与約 0.5、1 及び 2 時間後に血液（約 0.15 mL）を K_2-EDTA を含むチューブ内に顎下穿刺により採取した。さらに、3 匹／群／時点の動物から投与約 4、8、12 及び 24 時間後に血液（採取可能量）をイソフルラン麻酔下で心臓穿刺により採取した。血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG 濃度は LC-MS/MS 法により測定した。血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG 濃度に対してスパースサンプリングによるノンコンパートメント解析を実施した。得られた PK パラメータをモジュール 2.6.5.3、Table 6 に示す。

マウスに経口投与したときのアコラミジスの吸収は速やかであり、平均 t_{max} は 0.500 時間であった（Table 1）。用量の増加（25、50、100 及び 200 mg/kg）に伴いアコラミジスの C_{max}（それぞれ 4.90、16.5、78.7 及び 254 µg/mL）は用量比以上の増加を示した。用量の増加に伴いアコラミジスの AUC_{last} は、25～50 mg/kg では用量比未満の増加を示し、50～100 mk/kg 及び 100～200 mg/kg ではほぼ用量比例的に増加した。

アコラミジスの用量増加（25、50、100 及び 200 mg/kg）に伴いアコラミジス-AG の C_{max}（それぞれ 0.186、1.96、14.4 及び 45.7 µg/mL）及び AUC_{last} は用量比以上の増加を示した。アコラミジス-AG の曝露量（平均 AUC_{last}）はアコラミジスの 0.117%～13.7%の範囲であった。

Table 1: CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに経口投与したときのアコラミジス及びアコラミジス-AG の薬物動態パラメータ（平均値）

Group	Dose (mg/kg)	Acoramidis			Acoramidis-AG		
		t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)
1	25	0.500	4.90	40.2	0.500	0.186	0.047
2	50	0.500	16.5	57.7	0.500	1.96	0.992
3	100	0.500	78.7	114	0.500	14.4	9.25
4	200	0.500	254	311	0.500	45.7	42.5

Abbreviation: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, t_{max} = time of maximum observed concentration
Source: 8409786, Table 1.1

3.1.2 雄性 Sprague Dawley ラットに単回経口並びに十二指腸内、回腸内及び結腸内投与したときのアコラミジスの吸収部位

雄性 Sprague Dawley ラットを用いてアコラミジスの吸収部位を検討した（Siri-Eidos 243-20[redacted] 試験、Siri-Eidos 251-20[redacted] 試験）。アコラミジス 5 mg/kg を経口投与又は十二指腸内、回腸内及び結腸内投与した。経口投与では JVC ラットを使用した。十二指腸内、回腸内及び結腸内投与では、JVC ラット及び各消化管部位にカニューレ挿入したラットを使用した。3 匹／群の動物から投与前並びに投与約 0.25、0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミ

ジス濃度を LC-MS/MS 法により測定した。PK パラメータをモジュール 2.6.5.3、Table 7 に示す。

経口、十二指腸内及び結腸内投与したときのアコラミジスは速やかに吸収され、個々のラットの t_{max} は 0.250～2.00 時間であった（Table 2）。回腸内投与したときの吸収は遅延する傾向が認められ、個々のラットの t_{max} は 4.00～8.00 時間であった。経口及び十二指腸内投与による血漿中濃度プロファイルは類似しており、経口投与の t_{max}（平均 0.750 時間）は十二指腸内投与の t_{max}（平均 0.333 時間）よりもわずかに長かった。これは胃内通過時間が関係しているためと考えられる。回腸内投与の t_{max}（平均 5.33 時間）と結腸内投与の t_{max}（平均 0.917 時間）の比較から、回腸でのアコラミジスの吸収は低く、t_{max} が長かったことはアコラミジスが回腸から結腸に到達するまでに時間を要したためと考えられる。

経口投与の平均 AUC_{last}（22506 ng•h/mL）と十二指腸内投与の平均 AUC_{last}（23749 ng•h/mL）は類似しており、十二指腸での吸収が良好であることを示唆している。このことは、十二指腸内投与の C_{max} が経口投与よりもわずかに高いことからも裏付けられている。回腸内投与（平均 AUC_{last}：31132 ng•h/mL）及び結腸内投与（平均 AUC_{last}：35209 ng•h/mL）の曝露量は、経口又は十二指腸内投与よりもわずかに高かった。これは、回腸内投与での t_{max} がわずかに長いことも考え合わせると、結腸がアコラミジスの良好な吸収部位であることを示唆していると考えられる。

以上の結果から、アコラミジスの主要な吸収部位は結腸であり、これよりもわずかに低い程度で胃及び十二指腸でも吸収されるが、回腸での吸収は低いことが示唆された。

Table 2: **ラットに単回経口並びに十二指腸内、回腸内及び結腸内投与したときの血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ**

Group	Route of Administration	Dose (mg/kg)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng•h/mL)	AUC_{inf} (ng•h/mL)
1	Oral	5	11.9	0.750	2083	22506	29065
2	Intra-duodenal	5	11.1	0.333	2300	23749	29778
3	Intra-ileal	5	NC	5.33	2007	31132	NC
4	Intra-colonic	5	8.58	0.917	2863	35209	41062

Abbreviations: AUC_{inf} = area under the concentration-time curve from hour 0 to infinity, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, NC = Not calculated, $t_{1/2}$ = elimination half-life, t_{max} = time of maximum observed concentration
Source: Siri-Eidos 243-20[redacted] & Siri-Eidos 251-20[redacted]

3.1.3 雌性ウサギに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

雌性ウサギ 3 匹／群に 25、75 及び 150 mg/kg（それぞれ 1、2 及び 3 群）のアコラミジス（0.5% メチルセルロース中）を経口投与した（8410266 試験）。投与前並びに投与約 0.25、0.5、1、2、4、6、8 及び 24 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。血漿中アコラミジス濃度に対してノンコンパートメント解析を実施した。得られた PK パラメータをモジュール 2.6.5.3、Table 8 に示す。

雌性ウサギに経口投与したときのアコラミジスの平均 t_{max} は 0.583～1.00 時間であった（Table 3）。用量の増加（25、75 及び 150 mg/kg）に伴いアコラミジスの C_{max}（それぞれ 18.5、56.3 及び 94.3 µg/mL）はほぼ用量比例的に増加し、時間 0 から投与 24 時間後までの濃度時間曲線下面積（AUC_{24h}）は用量比未満の増加を示した。

Table 3: 雌性ウサギに経口投与したときのアコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値、N = 3）

Group	Dose (mg/kg)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	25	0.583	18.5	106
2	75	1.00	56.3	233
3	150	1.00	94.3	367

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, t_{max} = time of maximum observed concentration
Source: 8410266, Table 1.1

3.1.4 雄性 CD-1 マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルに単回静脈内及び経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

雄性 CD-1 マウス（409272-20[redacted]0930-MPK 試験）、Sprague Dawley ラット（409272-20[redacted]0930-RPK 試験）、ビーグル犬（409272-20[redacted]041901-DPK 試験）及びカニクイザル（8367761 試験）に静脈内及び経口投与したときのアコラミジスの薬物動態を評価した。その結果を Table 4 及びモジュール 2.6.5.3（Table 9 及び Table 10）に示す。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。静脈内投与したときの CL は低く（マウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 0.0613、0.0270、0.0219 及び 0.0423 L/h/kg）、V_{ss} は小さかった（マウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 0.392、0.488、0.612 及び 0.525 L/kg）。また、$t_{1/2}$ は比較的長かった（マウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 5.32、12.9、19.4 及び 10.1 時間）。

経口投与したとき、検討したすべての動物種で速やかに C_{max} に達した（マウス、ラット、イヌ及びサルの t_{max} はそれぞれ 0.833、2.67、0.583 及び 0.833 時間）。アコラミジスの吸収は良好であり、絶対的経口バイオアベイラビリティは、マウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 30.5%、59.7%、39.5%及び 49.4%であった。サルに静脈内及び経口投与したとき、アコラミジスの主要代謝物であるアコラミジス-AG の血漿中濃度も測定した。アコラミジスを静脈内及び経口投与したときのアコラミジス-AG の AUC_{24h} は、それぞれアコラミジスの約 6%及び約 19%と低かった。サルにアコラミジスを経口投与したときのアコラミジス-AG の $t_{1/2}$（4.87 時間）は、アコラミジス（13.2 時間）と比較して短かった。

Table 4: マウス、ラット、イヌ及びサルに静脈内及び経口投与したときのアコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値、N = 3）

Species	IV (1 mg/kg)				PO (5 mg/kg)				
	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{inf} (µg•h/mL)	V_{ss} (L/kg)	CL (L/h/kg)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{inf} (µg•h/mL)	F (%)
Mouse, CD-1 [a]	5.32	17.0	0.392	0.0613	5.82	0.833	2.78	25.9	30.5
Rat, Sprague Dawley [b]	12.9	38.2	0.488	0.0270	12.5	2.67	4.31	114	59.7
Dog, Beagle [c]	19.4	46.1	0.612	0.0219	20.0	0.583	4.10	91.1	39.5
Monkey, Cynomolgus [d]	10.1	25.7	0.525	0.0423	13.2	0.833	63.5	63.5	49.4

Abbreviations: AUC_{inf} = area under the concentration-time curve from hour 0 to infinity, CL = clearance, C_{max} = maximum observed concentration, F = absolute bioavailability, IV = intravenous, N = number of animals per group, PO = oral; $t_{1/2}$ = elimination half-life, t_{max} = time of maximum observed concentration, V_{ss} = volume of distribution at steady state
[a] Source: 409272-20[redacted]0930-MPK, Tables 7.3 and 7.4.
[b] Source: 409272-20[redacted]0930-RPK, Tables 7.3 and 7.4.
[c] Source: 409272-20[redacted]041901-DPK, Tables 7.3 and 7.4.
[d] Source: 8367761, Table 1.1.

3.1.5 雌雄の Sprague Dawley ラット及びビーグル犬に[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したときの薬物動態

雌雄のラットに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したときの薬物動態を評価した（8355837 試験）。投与液はアコラミジスと[^{14}C]-アコラミジスを 0.5%メチルセルロース／逆浸透水中で懸濁することにより調製した。ラットへの投与液量は 10 mL/kg とし、[^{14}C]-アコラミジスを平均用量 1020 ± 9.56 mg/kg（遊離塩基当量、約 195 ± 1.69 µCi/kg）で投与した。3 匹／性／時点の動物から投与約 0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72 及び 120 時間後に血液（約 1 mL）を頸静脈から K_2-EDTA を含むチューブ内に採取した。血漿中の総放射能（^{14}C）を LSC で測定した。血漿中放射能濃度に対してスパースサンプリングによるノンコンパートメント解析を実施した。得られた PK パラメータをモジュール 2.6.5.3、Table 11 に示す。

[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、雄性及び雌性ラットの t_{max} はそれぞれ 1 及び 4 時間であった（Table 5）。雄性及び雌性ラットの平均 C_{max} はそれぞれ 402000 及び 565000 ng eq/g であった。雌性ラットの血漿中濃度は雄性ラットよりも高かった。雄性及び雌性ラットの時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積（AUC_{inf}）はそれぞれ 4610000 及び 8790000 ng eq•h/g であった。雄性及び雌性ラットの血漿中放射能の $t_{1/2}$ はそれぞれ 9.53 及び 26.7 時間であった。

以上の PK の結果から、ラットでは血漿中曝露量に性差が認められた。

雌雄のビーグル犬に[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したときの薬物動態を評価した（8355830 試験）。投与液はアコラミジスと[^{14}C]-アコラミジスを 0.5%メチルセルロース／逆浸透水中で懸濁することにより調製した。イヌに[^{14}C]-アコラミジスを平均用量 250 ± 1.79 mg/kg（遊離塩基当量、約 74.3 ± 0.579 µCi/kg）で投与した。各動物から投与約 0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、24、48、72、96、120 及び 168 時間後に血液（約 3 mL）を頸静脈から K_2-EDTA を含むチューブ内に採取した。血漿中の総放射能（^{14}C）を LSC で測定した。血漿中放射能濃度に対してノンコンパートメント解析を実施した。得られた PK パラメータをモジュール 2.6.5.3、Table 11 に示す。

[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、雄性及び雌性イヌの t_{max} はそれぞれ 7.0 及び 6.7 時間であった（Table 5）。雄性及び雌性イヌの平均 C_{max} はそれぞれ 151000 及び 282000 ng eq/g であった。雌性イヌの血漿中濃度は雄性イヌよりも高かった。雄性及び雌性イヌの AUC_{inf} はそれぞれ 1700000 及び 3510000 ng eq•h/g であった。雄性及び雌性イヌの血漿中放射能の $t_{1/2}$ はそれぞれ 61.1 及び 62.4 時間であった。

Table 5: Sprague Dawley ラット及びビーグル犬に[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの総放射能の薬物動態パラメータ

Species	Sex	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng eq/g)	AUC_{inf} (ng eq•h/g)
Rat, Sprague Dawley [a]	Male	9.53	1	402000	4610000
	Female	26.7	4	565000	8790000
Dog, Beagle [b]	Male	61.1 [c]	7.00 [c]	151000 [c]	1700000 [c]
	Female	62.4 ± 22.2	6.67 ± 1.15	282000 ± 50500	3510000 ± 814000

Abbreviations: AUC_{inf} = area under the concentration-time curve from hour 0 to infinity, C_{max} = maximum observed concentration, eq = equivalents [^{14}C]acoramidis, $t_{1/2}$ = elimination half-life, t_{max} = time of maximum observed concentration
[a] Source: 8355837, Table 10 (Male) Table 11 (Female).
[b] Source: 8355830, Table 6.
[c] Standard deviation not reported for male dogs.

3.2 反復投与によるトキシコキネティクス

3.2.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスにアコラミジスを 1 日 1 回最長 28 日間反復経口投与したときのアコラミジス及びアコラミジス-AG の TK（非 GLP 準拠）を評価した（8409781 試験）。マウスにアコラミジス 500、1000 及び 1500 mg/kg/day を投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2～4 群の 3 匹／性／群／時点の動物から Day 1 及び 28 の投与前並びに投与約 0.5、1、2、12 及び 24 時間後に血液を採取した。Day 1 の血液はイソフルラン麻酔下で顎下静脈から、Day 28 の血液は二酸化炭素吸入麻酔下で心臓穿刺により採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 及び 28 の投与 1 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG 濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 12 に示す。

全般的に、雌雄動物を合わせて算出した TK パラメータは、特にアコラミジスに関しては雌雄ごとに解析した TK プロファイルを適切に表現していた。Day 1 のアコラミジスの C_{max} は 2 倍の用量増加（500～1000 mg/kg/day）に対して同程度の値であり、1000～1500 mg/kg/day では用量比例的に増加した（Table 6）。Day 1 のアコラミジスの AUC_{last} は用量増加（500～1000 mg/kg/day）に伴い用量比例的に増加した。Day 28 のアコラミジスの C_{max} 及び AUC_{last} は用量増加（500～1000 mg/kg/day）に伴い用量比未満の増加を示した。Day 28 のアコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は Day 1 と比較して低く、AUC_{last} の蓄積比は 0.472～0.576 であり 1 日 1 回の反復投与により蓄積が起こらないことを示唆した。

Day 1 のアコラミジス-AG の C_{max} は、アコラミジスの用量増加（500～1000 mg/kg/day）に伴い用量比未満の増加を示し、1000～1500 mg/kg/day では用量比以上の増加を示した（Table 6）。Day 1 のアコラミジス-AG の AUC_{last} はアコラミジスの用量増加（500～1000 mg/kg/day）に伴い用量比以上の増加を示した。Day 28 のアコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{last} はアコラミジスの用量

増加（500～1000 mg/kg/day）に伴い用量比以上の増加を示した。Day 28 のアコラミジス-AG の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は Day 1 と比較して高く、AUC_{last} の蓄積比は 1.64～2.57 でありアコラミジスの 1 日 1 回の反復投与により中程度の蓄積が起こることを示唆した。

Table 6: **マウスに 28 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量**

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)
1	2	500	MF	493	1980	108	413
	3	1000	MF	483	3900	114	1040
	4	1500	MF	692	1140 [a]	219	348 [a]
28	2	500	MF	324	1140	109	676
	3	1000	MF	443	1840	394	2680
	4	1500	MF	ND	ND	ND	ND

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined, ND = Not detected
[a] Samples only collected up to 2 hours postdose.
Source: 8409781, Table 4.1

3.2.2 ラットに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

最大 9 匹／性／群のラットにアコラミジス 0、100、400、600 及び 1000 mg/kg/day を投与し（それぞれ 1、2、3、4 及び 5 群）、TK（非 GLP 準拠）を評価した（8355817 試験）。1 群は媒体対照群であり、3 匹／性のラットを用いた。2～5 群の 3 匹／性／群／時点の生存動物から Day 1 及び 7 の投与前（Day 7 のみ）並びに投与約 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 及び 7 の投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 13 に示す。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に性差が認められなかったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（100～1000 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 7）。アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の増加は、100～400 mg/kg/day の AUC_{24h} が用量比以上に増加したのを除き、概ね C_{max} は用量比未満の増加を示し、AUC_{24h} は用量比例的に増加した。ラットに反復投与したとき、アコラミジスの蓄積は認められなかった。

5 群（1000 mg/kg/day）では、Day 7 の血漿中代謝物（アコラミジス-AG）濃度も測定した。アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h} に性差は認められなかった。アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h}（雌雄合わせた平均値）はそれぞれ 361 µg/mL 及び 4122 µg•h/mL であり、アコラミジス未変化体の値はそれぞれ 291 µg/mL 及び 3630 µg•h/mL であった。

Table 7: ラットに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	100	MF	93.9	223
	3	400	MF	199	1630
	4	600	MF	209	2230
	5	1000	MF	221	3640
7	2	100	MF	128	292
	3	400	MF	238	1500
	4	600	MF	269	2350
	5	1000	MF	291	3630

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8355817, Table 4.1

3.2.3 妊娠ラットに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

妊娠中の雌性ラットにアコラミジス 0、50、350 及び 1000 mg/kg/day を 1 日 1 回反復経口投与した（それぞれ 1、2、3 及び 4 群）。この試験（GLP 準拠）では妊娠 6～12 日目まで、6 匹／群のラットにアコラミジスを、3 匹のラットに媒体を投与した（8411734 試験）。2～4 群の 3 匹／群／時点の生存動物から妊娠 12 日目の投与前並びに投与約 1、2、4、8 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹の動物から妊娠 12 日目の投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により、アコラミジス-AG 濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.7、Table 31 に示す。

アコラミジスの C_{max} は、50～350 mg/kg/day のアコラミジスの用量増加に伴い用量比例的に増加し、350～1000 mg/kg/day では用量比未満の増加を示した。アコラミジスの AUC_{24h} は、50～350 mg/kg/day のアコラミジスの用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、350～1000 mg/kg/day では用量比例的に増加した（Table 8）。

アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h} はアコラミジスの用量増加（50～350 mg/kg/day 及び 350～1000 mg/kg/day）に伴い用量比以上の増加を示した（Table 8）。

Table 8: 妊娠ラットに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
GD12	2	50	F	23.1	73.5	4.93	12.1
	3	350	F	171	1630	40.7	368
	4	1000	F	281	3720	164	1610

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, F = Female, GD = gestation day
Source: 8411734, Appendix 10.5, Table 2

3.2.4 ラットに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

ラットにアコラミジスを 1 日 1 回少なくとも 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（GLP 準拠）を評価した（8355824 試験）。6 匹／性／群のラットにアコラミジス 50、200、600 及び 1000 mg/kg/day を反復経口投与した（それぞれ 2、3、4 及び 5 群）。1 群は媒体対照群であり、3 匹／性のラットを用いた。2～5 群の 3 匹／性／群／時点の動物から Day 1 及び 26 の投与前（Day 26 のみ）並びに投与約 0.5、1、2、12 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 及び 26 の投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 14 に示す。

全体的に、アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に一貫した性差が認められなかったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～1000 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 9）。アコラミジスの C_{max} の増加は、概ね用量比未満の増加を示し、AUC_{24h} は概ね用量比例的に増加した。ラットに反復投与したときのアコラミジスの蓄積比は 2 未満であった。

Table 9: ラットに 4 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	25.8	110
	3	200	MF	98.2	479
	4	600	MF	199	1780
	5	1000	MF	226	2800
26	2	50	MF	52.1	134
	3	200	MF	212	812
	4	600	MF	297	2310
	5	1000	MF	360	4820

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8355824, Table 4.1

3.2.5 ラットに 13 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

ラットにアコラミジスを 1 日 1 回最長 91 日間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（GLP 準拠）を評価した（8366846 試験）。ラットにアコラミジス 50、350 及び 1000 mg/kg/day を反復経口投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2～4 群の 3 匹／性／群／時点の生存動物から Day 1 及び 91 の投与前（Day 91 のみ）並びに投与約 0.5、1、2、12 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 及び 91 の投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 15 に示す。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の性差は 2 倍未満の差であったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～1000 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 10）。C_{max} の増加は、Day 1 の 50～350 mg/kg/day で概ね用量比例的に増加したことを除き、Day 1 及び 91 で用量比未満の増加を示した。Day 1 及び 91 の AUC_{24h} の増加は概ね用量比例的に増加した。ラットに反復投与したとき、アコラミジスの蓄積

が認められた。

Table 10: ラットに 13 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	13.8	98.4
	3	350	MF	160	1050
	4	1000	MF	206	2920
91	2	50	MF	134	245
	3	350	MF	317	2010
	4	1000	MF	341	4430

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8366846, Table 4.1

3.2.6 ラットに 176 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

Sprague Dawley ラットの 104 週間反復経口投与がん原性試験の一部として、アコラミジス及びアコラミジス-AG の TK（GLP 準拠）を評価した（8409782 試験）。TK 群では、雄性ラットにアコラミジス 5、15 及び 50 mg/kg/day を、雌性ラットにアコラミジス 40、120 及び 350 mg/kg/day を 1 日 1 回連続 176 日間反復経口投与した（2～4 群）。2～4 群の 3 匹／性／群／時点の生存動物から Day 1 及び 176 の投与前（Day 176 のみ）並びに投与約 0.5、1、2、12 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 の投与約 1 時間後及び Day 176 の投与前及び投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度及びアコラミジス-AG 濃度はいずれも LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 16 に示す。

全体的に、Day 1 及び 176 におけるアコラミジス及びアコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h} は用量増加に伴い増加した（Table 11）。アコラミジスの平均曝露量は、Day 1 と Day 176 で同程度の値であり、ラットにアコラミジスを連続 176 日間反復経口投与したとき全身循環血中での蓄積がほとんど又は全くないことを示唆している（AUC_{24h} の蓄積比は 0.813～1.22）。全般的に、雄性ラットのアコラミジス-AG の曝露量は 5 及び 15 mg/kg/day では Day 176 と比較して Day 1 の方が高く、50 mg/kg/day では Day 1 と Day 176 で同程度の値であったことから、ラットにアコラミジスを反復経口投与したときにアコラミジス-AG は蓄積しないことが示唆された。一方、雌性ラットのアコラミジス-AG の曝露量は、40 及び 120 mg/kg/day では Day 1 と Day 176 で同程度であったが、350 mg/kg/day では Day 1 と比較して Day 176 の方が高くなっており、ある程度蓄積していることが示唆された。

Table 11: ラットに 176 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	5	M	4.18	55.4	1.31	2.00
		40	F	23.4	110	7.51	21.4
	3	15	M	7.40	75.4	4.85	9.27
		120	F	125	358	32.6	96.4
	4	50	M	37.1	109	25.0	28.2
		350	F	316	1210	70.2	386
176	2	5	M	3.94	67.3	0.767	0.706
		40	F	31.1	89.2	12.0	30.5
	3	15	M	6.71	80.1	3.76	6.97
		120	F	114	302	34.1	121
	4	50	M	49.1	126	19.2	28.6
		350	F	218	1250	105	828

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, F = Female, M = Male
Source: 8409782, Appendix 10.4, Table 1

3.2.7 ラットに 26 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

ラットにアコラミジスを 1 日 1 回最長 182 日間反復経口投与したときのアコラミジス及びアコラミジス-AG の TK（GLP 準拠）を評価した（20[redacted]1689 試験）。ラットにアコラミジス 50、300 及び 600 mg/kg/day を反復経口投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2～4 群の 3 匹／性／群／時点の生存動物から Day 1 及び 182 の投与前並びに投与約 0.5、1、2、12 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹／性の動物から Day 1 の投与約 2 時間後及び Day 182 の投与前及び投与約 2 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度及びアコラミジス-AG 濃度はいずれも LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 17 に示す。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{last} の性差は、いくつかの例外を除いて 2 倍未満の差であったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。Day 1 のアコラミジスの C_{max} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比未満の増加を示した（Table 12）。Day 1 のアコラミジスの AUC_{last} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比例的に増加した。Day 182 のアコラミジスの C_{max} は、50～300 mg/kg/day 及び 300～600 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比未満の増加を示した。Day 182 のアコラミジスの AUC_{last} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比例的に増加した。Day 182 のアコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は Day 1 と比較してかなり高かった。AUC_{last} の蓄積比は 1.69（50 mg/kg/day）～2.21（300 mg/kg/day）と中程度の蓄積が認められ、反復投与によりアコラミジスの曝露量が高くなることが示唆された。

全体的に、雄性ラットのアコラミジス-AG の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は雌性ラットより高い傾向にあり、この傾向は Day 1 でより顕著であり、Day 182 ではそれほどではなかった（モジュール 2.6.5.4、Table 17）。雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価すると、Day 1 のアコ

ラミジス-AG の C_{max} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比未満の増加を示した（Table 12）。Day 1 のアコラミジス-AG の AUC_{last} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day ではわずかに用量比未満の増加を示した。Day 182 のアコラミジス-AG の C_{max} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比未満の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比例的に増加した。Day 182 のアコラミジス-AG の AUC_{last} は、50～300 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、300～600 mg/kg/day では用量比例的に増加した。アコラミジス-AG の AUC_{last} の蓄積比は 1.38（50 mg/kg/day）～1.78（300 mg/kg/day）と中程度の蓄積が認められ、アコラミジスの反復投与によりアコラミジス-AG の曝露量が高くなることが示唆された。

Table 12: **ラットに 26 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量**

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	16.8	93.7	8.09	24.2
	3	300	MF	147	790	63.6	332
	4	600	MF	174	1450	83.9	555
182	2	50	MF	91.4	158	17.2	37.8
	3	300	MF	261	1750	54.4	460
	4	600	MF	337	3140	117	991

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 20[redacted]1689, Appendix 16, Table 5

3.2.8 妊娠ウサギに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

妊娠中の雌性ウサギにアコラミジス 0、25、75 及び 200 mg/kg/day を 1 日 1 回反復経口投与した（それぞれ 1、2、3 及び 4 群）。この試験（GLP 準拠）では妊娠 6～12 日目まで、22 匹／群のウサギにアコラミジス及び対照媒体を投与した（8411735 試験）。3 匹／群／時点の生存動物から妊娠 13 日目の投与前並びに投与約 1、2、4、8 及び 24 時間後に血液を採取した。媒体対照群の 3 匹の動物から妊娠 13 日目の投与約 1 時間後に血液を採取した。血漿中のアコラミジス濃度及びアコラミジス-AG 濃度はいずれも LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.7、Table 32 に示す。

アコラミジスの C_{max} は、25～75 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示し、75～200 mg/kg/day では用量比例的に増加した。アコラミジスの AUC_{24h} は、25～75 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比例的に増加し、75～200 mg/kg/day では用量比以上の増加を示した（Table 13）。

アコラミジス-AG の C_{max} は、25～75 mg/kg/day 及び 75～200 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示した。アコラミジス-AG の AUC_{24h} は、25～75 mg/kg/day 及び 75～200 mg/kg/day の用量増加に伴い用量比以上の増加を示した（Table 13）。

Table 13: **妊娠ウサギに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミ**

ジス-AG の曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
GD13	2	25	F	19.7	147	0.535	2.35
	3	75	F	117	410	5.35	15.0
	4	200	F	319	1400	44.6	136

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, F = Female, GD = gestation day
Source: 8411735, Table 2

3.2.9 イヌに 3 日間反復経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回 3 日間反復経口投与したときのアコラミジスの薬物動態を評価した（8350157 試験）。2 匹／性／群の動物にアコラミジス 20、60 及び 200 mg/kg/day を投与した。Day 1 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後、Day 3 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48 及び 72 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 18 に示す。

全体的に、アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} に性差が認められなかったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（平均 C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（20～200 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 14）。アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} は用量比例的に増加した。イヌに 3 日間反復経口投与したとき、アコラミジスの蓄積は認められなかった。

Table 14: イヌに 3 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	1	20	MF	16.1	69.1
	2	60	MF	41.8	156
	3	200	MF	154	1020
3	1	20	MF	22.4	82.6
	2	60	MF	55.1	208
	3	200	MF	188	1060

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8350157, Table 5

3.2.10 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

2 匹／性／群のイヌにアコラミジス 5、15 及び 50 mg/kg/day を 7 日間反復経口投与した（409272-20[redacted]053101-DPK 試験）。Day 1 の投与約 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8 及び 24 時間後、Day 3～6 の投与前、並びに Day 7 の投与約 0（投与前）、0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、24、48、72 及び 96 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 19 に示す。

全体的に、アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} の性差は 2 倍未満の差であったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} は用量増加（5～50 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 15）。アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} は、5～15 mg/kg/day

の用量増加に伴い概ね用量比未満の増加を示し、15～50 mg/kg/day では概ね用量比例的に増加した。平均 C_{max} 及び AUC_{24h} の値は、Day 1 及び Day 7 で類似しており、イヌに 5、15 及び 50 mg/kg/day を 7 日間反復経口投与しても蓄積しないことが確認された。

Table 15: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	1,2	5	MF	6.43	51.5
	3,4	15	MF	11.8	75.4
	5,6	50	MF	38.6	220
7	1,2	5	MF	7.03	55.5
	3,4	15	MF	14.1	81.8
	5,6	50	MF	50.7	228

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 409272-20[redacted]053101-DPK, Table 1.1

3.2.11 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回最低 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（非 GLP 準拠）を評価した（8350153 試験）。イヌにアコラミジス 50、100 及び 200 mg/kg/day を投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2 及び 3 群では 2 匹／性／群の動物を、4 群では 6 匹／性の動物を使用した。1 群は媒体対照群であり、6 匹／性の動物を使用した。2～4 群の動物から、Day 1 の投与約 0.25、0.5、1、2 及び 6 時間後、Day 3 及び 5 の投与前、並びに Day 7 の投与前、投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液を採取した。4 群の回復期間の動物から、Day 7 の投与 48 及び 72 時間後及び Day 15（回復期間の 7 日目）の血液を採取した。媒体対照群の Day 1 及び 7 の投与約 2 時間後の血液も採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 20 に示す。

全体的に、アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} に性差が認められなかったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（平均 C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～200 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 16）。アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} は概ね用量比例的に増加した。

Table 16: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	29.7	NA
	3	100	MF	40.1	NA
	4	200	MF	63.1	NA
7	2	50	MF	15.7	104
	3	100	MF	31.9	149
	4	200	MF	77.2	421

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined, NA = not applicable
Source: 8350153, Table 4.1

3.2.12 イヌに 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回 7 日間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（非 GLP 準拠）を評価した（8355818 試験）。イヌにアコラミジス 0、50、200、600 及び 1000 mg/kg/day を投与した（それぞれ 1、2、3、4 及び 5 群）。1～5 群では、2 匹／性／群の動物を使用した。2～5 群の生存動物から、Day 1 及び 7 の投与前（Day 7 のみ）、投与約 1、2、4、8、12 及び 24（Day 1 のみ）時間後に血液を採取した。媒体対照群の Day 1 及び 7 の投与約 2 時間後の血液も採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 21 に示す。

全体的に、アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に性差が認められなかったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（平均 C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～1000 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 17）。アコラミジスの平均 C_{max} は Day 1 では概ね用量比未満の増加を示し、Day 7 ではほぼ用量比例的に増加し、平均 AUC_{24h} は Day 1 及び 7 で概ね用量比例的に増加した。イヌに 600 及び 1000 mg/kg/day を反復経口投与したときにアコラミジスの蓄積が認められた。

5 群（1000 mg/kg/day）の Day 1 及び 7 の血漿中代謝物（アコラミジス-AG）の濃度も測定した。雌雄動物を合わせて算出した Day 1 のアコラミジス-AG の平均 C_{max} 及び AUC_{24h} はそれぞれ 537 µg/mL 及び 3043 µg•h/mL であった。Day 7 では 2 匹の雌性イヌの結果のみであるが、アコラミジス-AG の平均 C_{max} 及び AUC_{24h} はそれぞれ 692 µg/mL 及び 7234 µg•h/mL であった。

Table 17: イヌに 7 日間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	36.0	171
	3	200	MF	108	685
	4	600	MF	224	1530
	5	1000	MF	250	1930
7	2	50	MF	32.2	148
	3	200	MF	99.1	560
	4	600	MF	425	3880
	5	1000 [a]	F	455	4890

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, F = Female, MF = Male/Female combined
[a] No male and female combined descriptive statistics are presented as both male animals died prior to Day 7.
Source: 8355818, Table 4.1

3.2.13 イヌに 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（GLP 準拠）を評価した（8355825 試験）。イヌにアコラミジス 50、200、400 及び 600 mg/kg/day を投与した（それぞれ 2、3、4 及び 5 群）。2～5 群では、3 匹／性／群の動物を使用し、1 群の媒体対照群では、5 匹／性の動物を使用した。各用量を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。2～5 群の生存動物から、Day 1 及び 28 の投与前（Day 28 のみ）、投与約 1、2、4、8、12 及び 24（Day 1 のみ）時間後に血液を採取した。媒体対照群の Day 1 及び 28 の投与約 2 時間後の血液も採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 22 に示す。

全体的に、アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} の性差は 2 倍未満の差であったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（平均 C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～600 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 18）。平均 C_{max} 及び AUC_{24h} は概ね用量比例的に増加した。イヌにアコラミジス 400 及び 600 mg/kg/day を反復経口投与したときにアコラミジスの蓄積が認められ、400 及び 600 mg/kg/day での C_{max} の平均蓄積比はそれぞれ 2.64 及び 3.35、AUC_{24h} の平均蓄積比はそれぞれ 1.89 及び 4.09 であった。

Table 18: イヌに 4 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	33.3	154
	3	200	MF	109	675
	4	400	MF	162	1320
	5	600	MF	204	1700
28	2	50	MF	42.3	171
	3	200	MF	122	702
	4	400	MF	265	1440
	5	600	MF	378	2370

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8355825, Table 4.1

3.2.14 イヌに 13 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回最長 91 日間反復経口投与したときのアコラミジスの TK（GLP 準拠）を評価した（8366847 試験）。イヌにアコラミジス 50、125 及び 300 mg/kg/day を投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2～4 群の生存動物から、Day 1 及び 91 の投与前（Day 91 のみ）、投与約 1、2、4、8、12 及び 24（Day 1 のみ）時間後に血液を採取した。媒体対照群の Day 1 及び 91 の投与約 2 時間後の血液も採取した。血漿中アコラミジス濃度は LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 23 に示す。

全体的に、アコラミジスの平均 C_{max} 及び AUC_{24h} の性差は 2 倍未満の差であったため、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。アコラミジスの曝露量（平均 C_{max} 及び AUC_{24h}）は用量増加（50～300 mg/kg/day）に伴い増加した（Table 19）。平均 C_{max} 及び AUC_{24h} は概ね用量比例的に増加した。イヌにアコラミジスを反復経口投与したときにアコラミジスの蓄積は認められなかった。

Table 19: イヌに 13 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジスの曝露量

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	34.1	159
	3	125	MF	56.2	379
	4	300	MF	149	976
91	2	50	MF	38.8	179
	3	125	MF	85.1	376
	4	300	MF	196	1130

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 8366847, Table 4.1

3.2.15 イヌに 39 週間反復経口投与したときのアコラミジスのトキシコキネティクス

イヌにアコラミジスを 1 日 1 回少なくとも 39 週間反復経口投与したときのアコラミジス及びアコラミジス-AG の TK（GLP 準拠）を評価した（20[redacted]1692 試験）。イヌにアコラミジス 50、112 及び 250 mg/kg/day を投与した（それぞれ 2、3 及び 4 群）。2～4 群の生存動物から、投与前並びに投与約 1、2、4、8 及び 12 時間後に血液を採取した。媒体対照群の Day 1 及び 273 の投与前及び投与約 2 時間後の血液も採取した。さらに、1～4 群の動物から、Day 136 の投与前の血液も採取した。血漿中のアコラミジス濃度及びアコラミジス-AG 濃度は、いずれも LC-MS/MS 法により測定した。得られた TK パラメータをモジュール 2.6.5.4、Table 24 に示す。

全体的に、雌性イヌの血漿中平均アコラミジス及びアコラミジス-AG 濃度は雄性イヌと同程度か、わずかに高かった。一部の群では、雌性イヌの濃度が雄性イヌより高かったが、これはすべての用量及び試験日に当てはまることではなかった（モジュール 2.6.5.4、Table 24）。以下、雌雄動物を合わせて算出したパラメータで評価した。

用量の増加に伴い Day 1 のアコラミジスの C_{max} はほぼ用量比例的に増加し、AUC_{last} は用量比以上の増加を示した（Table 20）。Day 136 の投与前の平均アコラミジス濃度は、1.74 µg/mL（50 mg/kg）～3.69 µg/mL（250 mg/kg）であった。これらの濃度は Day 273 の濃度よりも低く、Day 136 から Day 273 の間でさらに蓄積が進んだことを示唆している。用量の増加に伴い Day 273

のアコラミジスの C_{max} はほぼ用量比例的に増加し、AUC_{last} は用量比以上の増加を示した。Day 273 のアコラミジスの曝露量は Day 1 と比較して高く、AUC_{last} の蓄積比は 1.43～2.15 の範囲であった。

アコラミジスの用量の増加に伴い Day 1 のアコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{last} は用量比以上の増加を示した（Table 20）。Day 136 の投与前の平均アコラミジス-AG 濃度は、0.0763 µg/mL（用量 50 mg/kg）～0.762 µg/mL（用量 250 mg/kg）であった。これらの濃度は Day 273 の濃度よりもわずかに低く、Day 136 から Day 273 の間でさらにアコラミジス-AG の蓄積が進んだことを示唆している。アコラミジスの用量の増加に伴い Day 273 のアコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{last} は用量比以上の増加を示した。

アコラミジスの曝露量に対するアコラミジス-AG の曝露量は、用量の増加及び投与日数の増加に伴い増加した。アコラミジス-AG の曝露量（平均 AUC_{last}）は、Day 1 ではアコラミジス曝露量の約 16%～68%、Day 273 ではアコラミジス曝露量の約 27%～70%であった。

Table 20: **イヌに 39 週間反復経口投与したときの血漿中アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量**

Day	Group	Dose (mg/kg/day)	Sex	Acoramidis		Acoramidis-AG	
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)
1	2	50	MF	24.6	90.7	6.73	15.0
	3	112	MF	53.4	260	21.4	79.2
	4	250	MF	147	824	106	497
273	2	50	MF	53.7	154	20.3	42.4
	3	112	MF	110	404	65.0	184
	4	250	MF	248	1170	185	818

Abbreviations: acoramidis-AG: acoramidis acylglucuronide, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, MF = Male/Female combined
Source: 20[redacted]1692, Table 5 & 6

4　分布

4.1　雄性 Sprague Dawley ラットに経口投与したときのアコラミジスの脳内分布

Sprague Dawley ラットに経口投与したときの血漿、脳及び CSF 中アコラミジスの PK を評価した（409272-20[redacted]0919-RPK 試験）。その結果をモジュール 2.6.5.5、Table 25 に示す。

3 匹／群の雄性ラットにアコラミジス 200 mg/kg を経口投与した（1、2、3 及び 4 群）。1～4 群の各動物から投与 1、4、12 及び 24 時間後に血液、脳及び CSF を採取した。脳ホモジネート、CSF 及び血漿中のアコラミジス濃度を測定し、PK パラメータを算出した。ラット血漿、脳及び CSF 中アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の結果を Table 21 に示す。脳ホモジネート及び CSF 中のアコラミジス濃度は、血漿中濃度の 1%未満であることが示された。したがって、経口投与した場合、アコラミジスが CSF 中の TTR に結合する可能性は低いと考えられる。

Table 21:　ラットに経口投与したときの脳及び脳脊髄液中アコラミジスの曝露量

Matrix	C_{max} (µg/mL or µg/g) [a]	AUC_{24h} (µg•h/mL or µg•h/g) [a]
Plasma	141	371
Brain Homogenate	0.714	1.96
CSF	0.622	1.91

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24, C_{max} = maximum observed concentration, CSF = cerebrospinal fluid
[a] Reported as µg/mL & µg•h/mL for plasma and CSF. Reported as µg/g & µg•h/g for brain.
Source: 409272-20[redacted]0919-RPK, Table 1.1

4.2　ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの組織分布

Sprague Dawley 及び Long Evans 雄性ラットに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したときの総放射能の組織分布を定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により評価した（8355837 試験）（モジュール 2.6.5.5、Table 26～Table 29）。投与液はアコラミジスと[^{14}C]-アコラミジスを 0.5%メチルセルロース／逆浸透水中で懸濁することにより調製した。ラットへの投与液量は 10 mL/kg とし、[^{14}C]-アコラミジスを平均用量 1020 ± 9.56 mg/kg（遊離塩基当量、約 195 ± 1.69 µCi/kg）で投与した。

経口投与後の有色 Long Evans 雄性ラットでの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の組織分布は投与 0.5 時間後の時点で広範囲であった。組織中放射能濃度の C_{max} は、ほとんどの組織で投与 0.5 時間後に観察された。C_{max} が高かった組織は、胆汁及び尿を除き、肝臓、動脈壁、副腎、腎臓（腎皮質を含む）及び胃であった。C_{max} が低かった組織は、脳室周囲器官を除く中枢神経系組織、腹部脂肪、精嚢、鼻甲介及び精巣であった。本試験の全期間を通して、延髄及び臭葉では放射能は検出されなかった。ほとんどの組織で投与 8 時間後まで放射能濃度が検出された。組織中放射能濃度は、全体的に C_{max} に到達後経時的に減少し、評価した組織のうち 9 組織を除いて投与 24 時間後までに測定可能な濃度以下に減少した。投与 48 及び 72 時間後では、3 組織を除くすべての組織で放射能は定量下限未満となった。最終測定時間である投与 168 時間後までに、放射能濃度はすべての組織で定量下限未満となった。全体的に、検討した組織中に放射能の蓄積や滞留は観察されなかった。また、本試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は有色ラットのメラニン含有組織と選択的に結合しないことも示唆された。Sprague Dawley 白色ラットにおける分布傾向は、いくつかの例外を除いて、概ね有色雄性ラットの組織分布と類似していた。Long Evans ラットと Sprague Dawley ラットの間で認められた C_{max} 到達時間の差、及び投与 24 時間後に放射能が検出された組織数の差は、スパースサンプリング及び色素含有組織による影響と考えられる。

4.3 Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトにおけるアコラミジスの血漿タンパク結合

Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトにおけるアコラミジスの血漿タンパク結合率を平衡透析法によって評価した（Study DATED-[redacted]20[redacted] 試験）。その結果をモジュール 2.6.5.6、Table 30 に示す。アコラミジス（10 又は 50 µM）を血漿に添加し（n = 2）、Rapid Equilibrium Device 内でリン酸緩衝生理食塩水（PBS、pH 7.4）に対して 37°C で 4 時間インキュベーションした。インキュベーション終了後、血漿及び緩衝液試料の一定量を採取し、それぞれに等容量のブランク緩衝液及びブランク血漿を添加し、マトリックス成分を一致させた。その後、除タンパクによりアコラミジスを抽出した。アコラミジス濃度を LC-MS/MS 法により測定し、非結合型分率及びタンパク結合率を算出した。アコラミジスの血漿タンパク結合率は検討したすべての動物種で高く（86.8%～98.8%）、ヒト血漿を除いて、アコラミジスの濃度が高いほど非結合型分率が高い傾向が認められた。結果を Table 22 に示す。

Table 22: 各種動物におけるアコラミジスの血漿タンパク結合

Species	% Bound		% Free	
	Acoramidis Concentration		Acoramidis Concentration	
	10 µM	50 µM	10 µM	50 µM
Rat, Sprague Dawley	97.8	92.3	2.2	7.7
Dog, Beagle	94.8	86.8	5.2	13.2
Monkey, Cynomolgus	98.8	97.0	1.2	3.0
Human	96.5	96.3	3.5	3.7

Source: Study DATED-[redacted]20[redacted]

4.4 胎盤・胎児移行性

対象となる患者集団の年齢層を考慮し、胎盤・胎児移行性試験は実施していない。ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（CTD2.6.6、6.6 項）において本薬に関連した変化として胚吸収及び分娩異常が認められている。母動物毒性（体重及び摂餌量の減少）の影響も考えられるが、本薬が胎盤を通過し、胎児に移行している可能性は否定できない。

4.5 Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトにおけるアコラミジスの in vitro 血球移行

Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの血液を用い、アコラミジスの最終濃度 0.1、1 及び 10 µM（n = 3）におけるアコラミジスの血液／血漿中濃度比（$K_{B/P}$）及び血球/血漿中濃度比（$K_{E/P}$）を評価した（EIDOS-20[redacted]0921-BPR 試験）。その結果をモジュール 2.6.5.8、Table 33 に示す。アコラミジスを全血に添加し、その一定量（T_0）を分析用に採取した。5% CO_2 雰囲気下、37°C で 60 分間インキュベーションし、血液（$T_{60\text{-}B}$）及び血漿（$T_{60\text{-}P}$）試料を採取した。T_0、$T_{60\text{-}B}$ 及び $T_{60\text{-}P}$ 試料中のアコラミジス濃度を LC-MS/MS 法により測定し、$K_{B/P}$ を算出した。ヘマトクリット値を実測し、その値及び $K_{B/P}$ を使用し各動物種の $K_{E/P}$ を算出した。陽性対照としてジクロフェナク、クロルタリドン及びクロロキンについても測定した。結果を Table 23 に示す。アコラミジスは、ラット、イヌ、サル及びヒトの血球に対して低い親和性を示した（$K_{E/P}$：0～0.298）。ラット、イヌ、サル及びヒトにおけるアコラミジスの血球移行には顕著な種差や濃度依存性は認められず、$K_{B/P}$ は 0.481～0.705 の範囲であった。

Table 23: 各種動物におけるアコラミジスの血液／血漿中濃度比及び血球／血漿中濃度比（平均値）

Species	$K_{B/P}$			$K_{E/P}$		
	0.1 µM	1 µM	10 µM	0.1 µM	1 µM	10 µM
Rat, Sprague Dawley	0.64	0.68	0.70	0.09	0.41	0.23
Dog, Beagle	0.56	0.50	0.48	0.10	~0	~0
Monkey, Cynomolgus	0.56	0.64	0.71	~0	~0	0.30
Human	0.53	0.57	0.52	~0	~0	~0

Abbreviations: $K_{B/P}$ = blood/plasma ratio, $K_{E/P}$ = erythrocyte partitioning
Source: EIDOS-20[redacted]0921-BPR

5　代謝（動物種間の比較）

5.1　In vitro 代謝

5.1.1　人工胃液中でのアコラミジスの安定性

米国薬局方ガイドラインに従って調製した人工胃液（SGF）中でのアコラミジスの安定性を評価した（Penchala, 2013）。アコラミジス（20 µM）を SGF に添加し 37°C でインキュベーションした。試料の一定量（50 µL）を 0、2、4 及び 24 時間後に定量した。その結果、24 時間後に分解されたアコラミジスは 10%未満であり、アコラミジスは SGF 中で安定であった。

5.1.2　ヒト肝ミクロソーム中でのアコラミジスの in vitro 代謝安定性

総量 500 µL のリン酸カリウム緩衝液（100 mM、pH 7.4）中、HLM（1 mg/mL）、アコラミジス（1 µM）、$MgCl_2$（4 mM）及び NADPH（1.6 mM）のミクロソーム混合液（n = 2）をインキュベーションして評価した（Penchala, 2013）。この in vitro 代謝試験の結果、2 時間後に 80%のアコラミジスが残存しており、アコラミジスの代謝にミクロソーム中の CYP を含む NADPH 依存性酵素の寄与は小さいことが明らかとなった。

5.1.3　Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの凍結保存肝細胞におけるアコラミジスの代謝安定性

アコラミジス（1 µM）を Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの肝細胞とインキュベーションしたときの代謝安定性を評価した（EIDOS-20[redacted]0921-HMS 試験）。その結果をモジュール 2.6.5.10、Table 38 に示す。ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞でのアコラミジスの $t_{1/2}$ はそれぞれ 133、365 超、33.0 及び 85.6 分であった。算出された Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの肝 CL_{int} はそれぞれ 24.3、13.1 未満、75.6 及び 29.3 mL/min/kg（1.46、0.786 未満、4.54 及び 1.76 L/h/kg）であった（Table 24）。これらの結果から、アコラミジスは Sprague Dawley ラット及びビーグル犬の肝細胞では安定であり、カニクイザル及びヒトの肝細胞では肝血流量と比較して in vitro で高い CL を示すことが明らかとなった。

ただし、これらの推定肝 CL_{int} 値（1.46、0.786 未満及び 4.54 L/h/kg）は、ラット、イヌ及びサルに静脈内投与したときの CL 値（0.0270、0.0219 及び 0.0423 L/h/kg）よりも高かった。したがって、肝細胞を用いた in vitro 試験系の結果は、サル及びヒトの CL 値が過大評価されている可能性がある。

Table 24:　ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝安定性

Species	% AG10 Remaining at 2 h	$t_{1/2}$ (min)	$CL_{int(hep)}$ (µL/min/10^6cells)	$CL_{int(liver)}$ (mL/min/kg)
Rat, Sprague Dawley	54.6	133	5.2	24.3
Dog, Beagle	80.3	> 365	< 1.9	< 13.1
Monkey, Cynomolgus	6.4	33.0	21	75.6
Human	35.1	85.6	8.10	29.3

Abbreviations: AG10 = acoramidis, CL_{int} = intrinsic clearance, $t_{1/2}$ = elimination half-life
Source: EIDOS-20[redacted]0921-HMS, Table 13

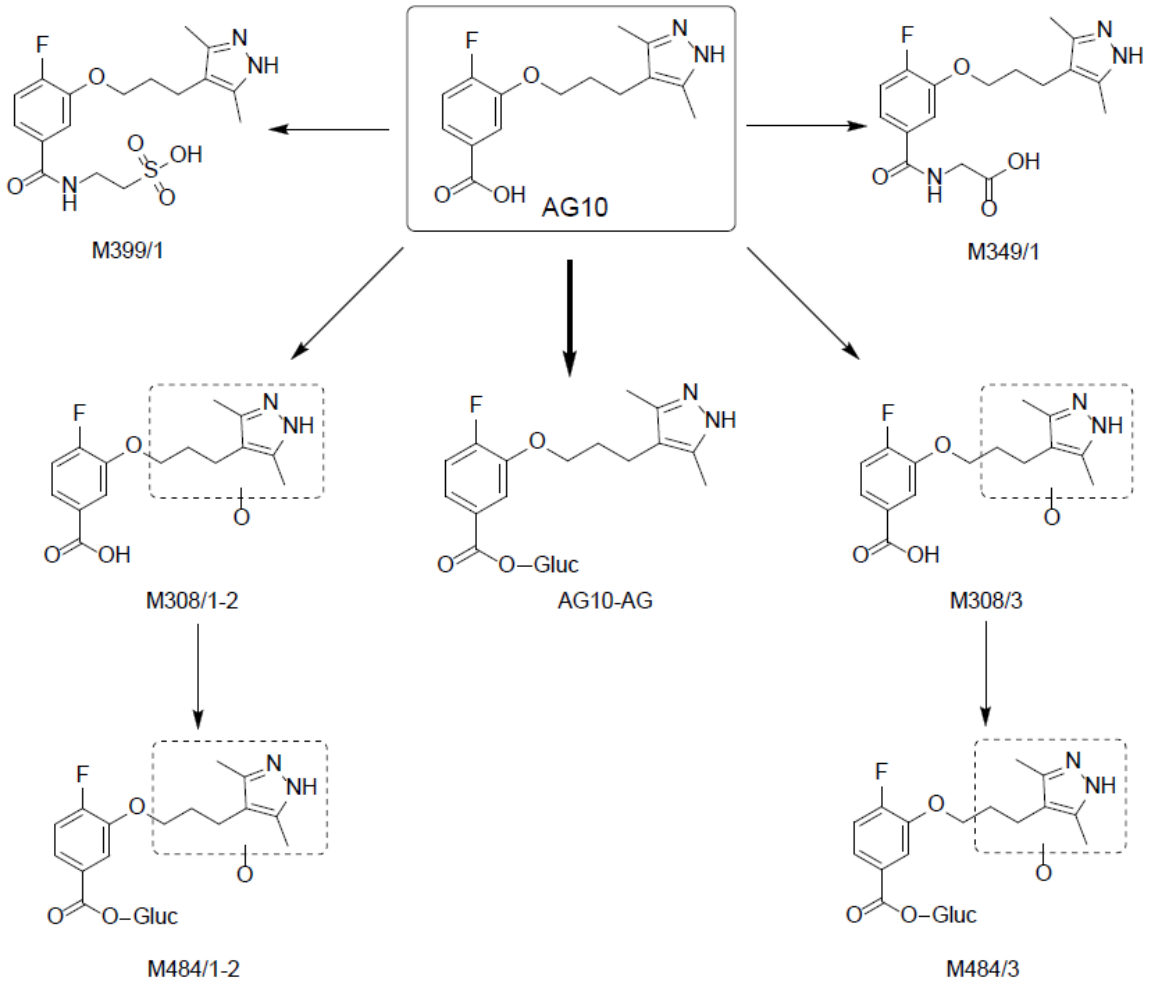
5.1.4 ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞（懸濁液）を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物の同定

アコラミジス（10 µM、n = 3）を凍結保存した Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの肝細胞懸濁液（1×10^6 生細胞/mL）と約 37°C で 0 及び 4 時間インキュベーションした（[redacted]906 試験）。ラット、イヌ、サル及びヒトのインキュベーション後の試料を用いて、液体クロマトグラフィーフーリエ変換質量分析法（LC/FT-MS）により代謝物の特性評価と同定を実施した。

MS ピーク面積の比較によって、代謝物の相対存在（生成）量（すべての薬物関連成分に対する個々の代謝物のピーク面積%で表現）を決定した。その結果をモジュール 2.6.5.10、Table 39 に示す。

アコラミジスはラット及びイヌの肝細胞とのインキュベーションにより代謝され、サル及びヒトの肝細胞でより速い速度で代謝された。LC-MS により、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞で、アコラミジス未変化体に加えて、9 種類の代謝物（アシルグルクロン酸抱合体の異性体を除く）が暫定的に同定された。ヒト特有の代謝物は認められなかった。半定量的データから、主要な代謝経路はアシルグルクロン酸抱合（アコラミジス-AG）であり、ラット、イヌ、サル及びヒトの総薬物関連成分のそれぞれ約 15.3%、24.2%、65.3%及び 72.5%であった。他の副次的な代謝経路として、1）一酸化（M308/1-3 生成）及びそれに続くグルクロン酸抱合（M484/1-3 生成）、2）タウリン抱合（M399/1 生成）及び 3）グリシン抱合（M349/1 生成）が確認された。ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞におけるアコラミジスの推定代謝経路を Figure 1 に示す。

Figure 1　　ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞（凍結保存）におけるアコラミジスの推定代謝経路



Chemical Name of Acoramidis: 3-[3-(3,5-Dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propoxy]-4-fluorobenzoic acid (indicated as AG10)
Abbreviations: AG10 = acoramidis, Gluc = glucuronic acid

5.1.5　C57BL/6 マウス及びヒトの肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物の同定

マウス肝細胞とのインキュベーションにより生成したアコラミジスの一次代謝物を同定し、ヒト肝細胞で生成した代謝物と比較した（QA-5239 Eidos 021120[redacted] 試験）。

アコラミジス（10 µM、n＝3）を凍結保存したマウス及びヒトの肝細胞懸濁液（約 1×10^6 生細胞/mL）と 37°C で 0 及び 4 時間インキュベーションした。

4 時間インキュベーション後の試料の LC-MS ピーク面積に基づいて、マウス及びヒトの肝細胞で同定された主要な代謝物とアコラミジスの相対存在量をモジュール 2.6.5.10、Table 40 に示す。マウス及びヒトの肝細胞でのアコラミジスの代謝プロファイルは類似していた。半定量的データから、主要な代謝経路はアシルグルクロン酸抱合（アコラミジス-AG）であり、マウス及びヒト肝細胞での総薬物関連成分のそれぞれ約 27.6%及び 75.8%であった。

5.1.6 アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体の安定性

反応性の代替指標としてアコラミジス-AG をリン酸緩衝液中で最長 24 時間インキュベーションしたときの安定性を評価した（[redacted]4018 試験）。比較対照として、フロセミドアシルグルクロン酸抱合体及びプロベネシドアシルグルクロン酸抱合体を用いた。

アコラミジス-AG（20 µM）、プロベネシドアシルグルクロン酸抱合体（比較的反応性の高い抱合体、20 µM）及びフロセミドアシルグルクロン酸抱合体（比較的安定な抱合体、20 µM）を、リン酸カリウム緩衝液（100 mM、pH 7.4）を含むインキュベーション混合物 5 mL 中、37 ± 2°C で一定時間インキュベーションし、LC-MS/MS 法で分析した。

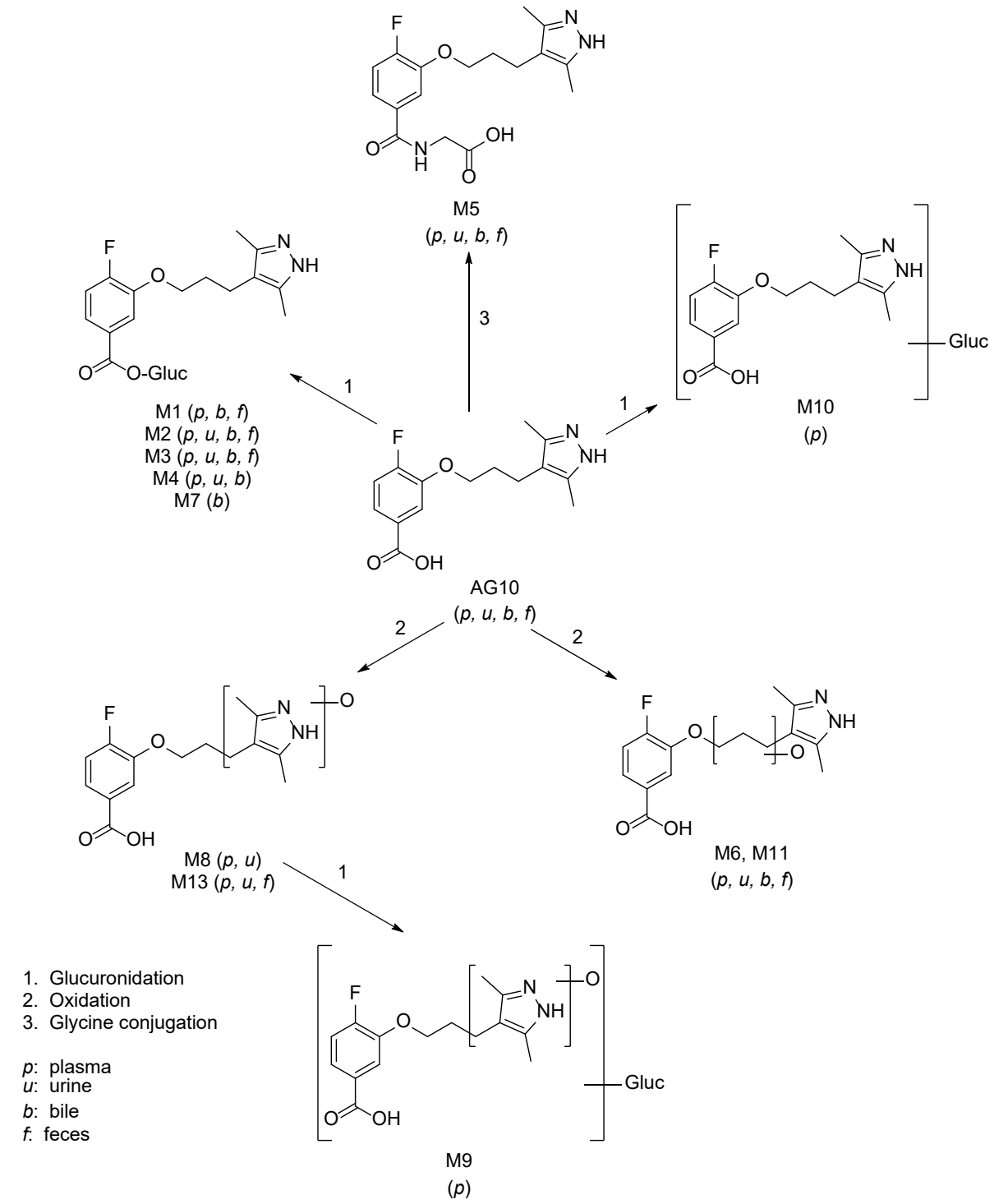
半減期の比較から、アコラミジス-AG（161 分）はフロセミドアシルグルクロン酸抱合体（204 分）よりもわずかに不安定であるが、プロベネシドアシルグルクロン酸抱合体（20.6 分）と比較してかなり安定であった。半減期が短い場合（約 30 分未満）、共有結合する可能性が高いと考えられている（Akira, 2002）。

5.2 In vivo 代謝

5.2.1 ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの代謝

ラットに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、アコラミジスは広範囲に代謝された（8355837 試験）。13 種類の代謝物が同定又は明らかにされ、胆汁及び尿中に 8 種類、糞中に 7 種類及び血漿中に 11 種類の代謝物が検出された（モジュール 2.6.5.9、Table 34～Table 36）。代謝物 M9 及び M10 は血漿中にのみ存在した。グルクロン酸抱合が主な代謝経路であり、酸化及びグリシン抱合は副次的な代謝経路であった。血漿、尿及び糞中の主要成分はアコラミジスであったが、ラットの血漿及び胆汁中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合体 M4（AG10 BGLUC-3）であり、次にアシルグルクロン酸抱合体の異性体（M1、M2、M3 及び M7）であった。胆汁中にアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合体が多く存在し、胆汁及び尿中にアコラミジスが比較的少なかったことから、アコラミジスは主にグルクロン酸抱合による代謝によって消失することが示された。尿及び胆汁中にアコラミジスが比較的少なかったことから、尿及び胆汁中クリアランスは副次的な消失経路であることを示唆している。アコラミジスのラットにおける推定代謝経路を Figure 2 に示す。

Figure 2　　ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの推定代謝経路

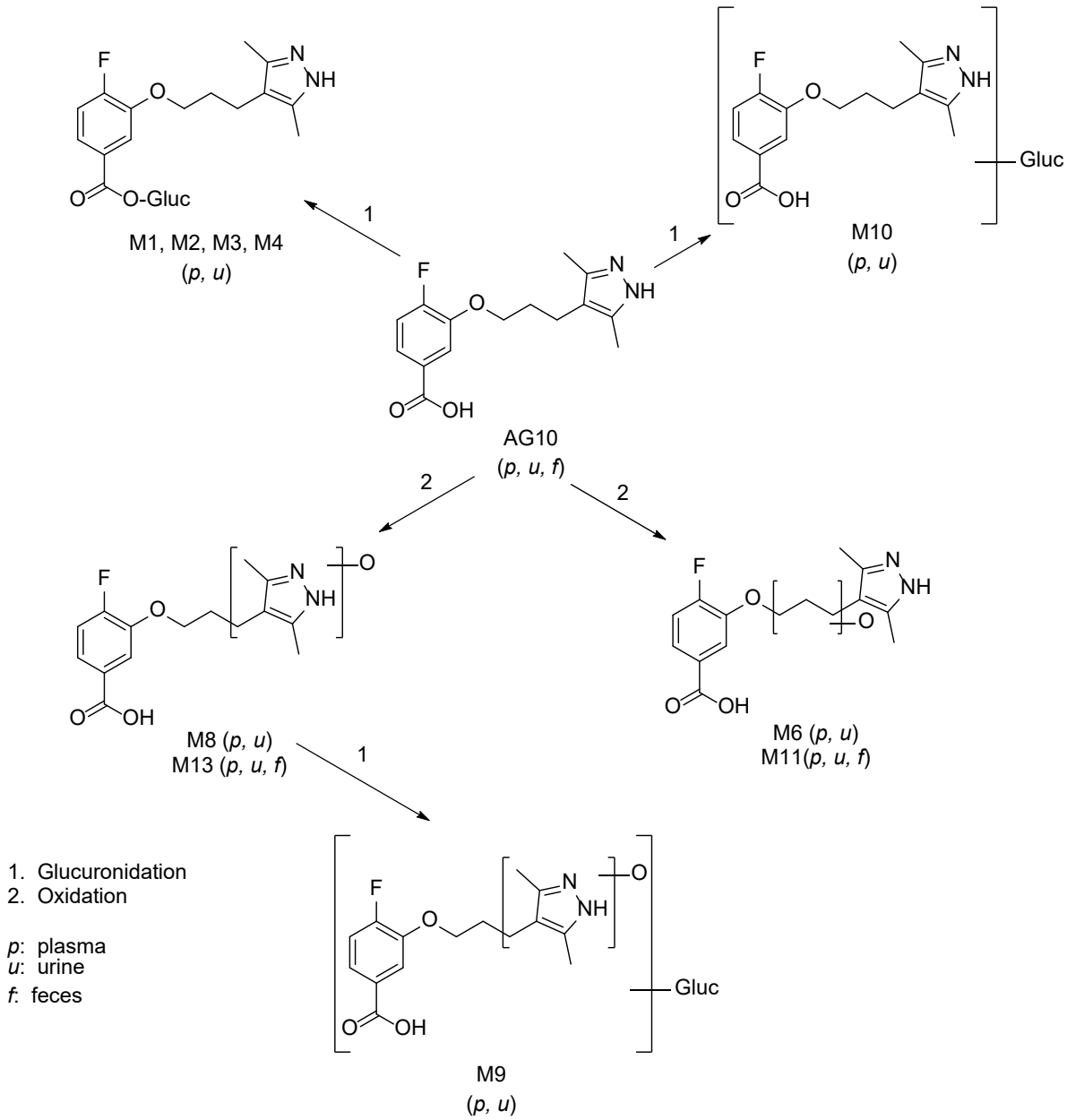


5.2.2　　イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの代謝

イヌに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、アコラミジスの中程度の代謝が観察された（8355830 試験）。雌雄のイヌに経口投与したときの血漿、尿及び糞中の主要成分はアコラミジスであったが、循環血中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロ

ン酸抱合体 M4（AG10 BGLUC-3）であり、少量ではあるが尿中にも検出された（モジュール 2.6.5.9、Table 37）。10 種類の代謝物が同定又は明らかにされ、アコラミジスに加えて 10 種類の代謝物すべてが血漿及び尿中に存在し、糞中には 2 種類の代謝物（M11 及び M13）のみが微量に存在した。イヌではグルクロン酸抱合が主要な代謝経路であり、酸化は副次的な代謝経路であった。アコラミジスのイヌにおける推定代謝経路を Figure 3 に示す。

Figure 3　　イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの推定代謝経路



6　排泄

6.1　ラットに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの排泄

[^{14}C]-アコラミジスを雌雄の Sprague Dawley ラットに単回経口投与後 168 時間までの尿、糞及びケージ残留物を含むすべてのマトリックス中総放射能の排泄を LSC によって測定した。その結果をモジュール 2.6.5.13、Table 48 及びモジュール 2.6.5.14、Table 50 に示す。排泄された放射能の大部分は、投与後 48 時間以内に回収された（雄性ラット：85.4%、雌性ラット：79.6%）。無処置の雄性及び雌性ラット（2 群）の放射能の平均回収率はそれぞれ投与量の 97.6%及び 98.5%であった（8355837 試験）。ラットにおける[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は糞中であった。無処置の雄性及び雌性ラットの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 79.0%及び 71.7%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 16.3%及び 24.8%であった。全体的に、無処置のラットに経口投与したときの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、速やかに排泄された。

BDC 雄性ラット（3 群）の放射能の平均回収率は投与量の 97.3%であった。BDC ラットにおける[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は胆汁中であった。BDC 雄性ラットにおける胆汁、尿及び糞中排泄率（平均値）は、それぞれ投与量の 80.5%、9.79%及び 5.98%であった。全体的に、BDC 雄性ラットに経口投与したときの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、速やかに排泄された。

BDC 雄性ラットの排泄試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の排泄に胆汁排泄が大きくかかわっていることが示された。BDC 雄性ラットの胆汁及び尿中に排泄された薬物由来放射能の総回収量から、投与後 120 時間までに経口投与した量の少なくとも 90%が吸収されたことを示している。

6.2　イヌに[^{14}C]-アコラミジスを経口投与したときの排泄

[^{14}C]-アコラミジスを雌雄のイヌに単回経口投与後 168 時間までの尿、糞及びケージ残留物を含むすべてのマトリックス中総放射能の排泄を LSC によって測定した。その結果をモジュール 2.6.5.13、Table 49 に示す。排泄された放射能の大部分は、投与後 72 時間以内に回収された（雄性イヌ：88.1%、雌性イヌ：93.4%）。雄性及び雌性イヌの放射能の平均総回収率はそれぞれ投与量の 95.3%及び 98.1%であった（8355830 試験）。[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は糞中であった。雄性及び雌性イヌの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 51.0%及び 66.0%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 34.4%及び 27.8%であった。イヌに経口投与したときの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は速やかに吸収され、速やかに排泄された。

6.3　乳汁排泄

対象となる患者集団の年齢層を考慮し、乳汁排泄試験は実施していない。ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（CTD2.6.6、6.6 項）において本薬に関連した出生児（F1）の体重低値が認められている。母動物毒性（体重及び摂餌量の減少）の影響も考えられるが、本薬が乳汁中へ移行している可能性は否定できない。

7　薬物動態学的薬物相互作用

7.1　雄性ビーグル犬に経口投与したときのアコラミジスの薬物動態に対するオメプラゾール及びペンタガストリンの影響

オメプラゾール（プロトンポンプ阻害剤）又はペンタガストリンの前投与の有無の状況で、イヌにアコラミジス 200 mg 錠を経口投与した（20[redacted]9305 試験）。投与約 1、2、4、6、12 及び 24 時間後に血液を採取し、血漿中アコラミジス濃度を LC-MS/MS 法により測定した。得られた PK パラメータをモジュール 2.6.5.15、Table 51 に示す。統計解析（GraphPad Prism 7.0 を用いた対応のない t 検定）により、イヌにアコラミジスの 200 mg 錠を投与したとき、オメプラゾールの前投与の有無による C_{max} 及び AUC_{last}（Table 25）に有意差（$p < 0.05$）は認められなかった（C_{max} 及び AUC_{last} に対する p 値はそれぞれ 0.946 及び 0.2220）。同様に、イヌにアコラミジスの 200 mg 錠を投与したとき、ペンタガストリンの前投与の有無による C_{max} 及び AUC_{last} に有意差（$p < 0.05$）は認められなかった（C_{max} 及び AUC_{last} に対する p 値はそれぞれ 0.6014 及び 0.7452）。検討した試験条件下でイヌにアコラミジスを経口投与したとき、オメプラゾール及びペンタガストリンはアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量に有意な影響を示さなかった。

Table 25:　オメプラゾール又はペンタガストリンの前投与有無によるイヌ血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ

Group	Treatment	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg•h/mL)
1	AG10 Tablet (200 mg) + Omeprazole (20 mg)	1.00 ± 0	11.5 ± 3.85	72.2 ± 8.14
2	AG10 Tablet (200 mg) + Vehicle for pentagastrin	1.00 ± 0	11.4 ± 2.28	78.4 ± 3.92
3	AG10 Tablet (200 mg) + Pentagastrin (0.006 mg/kg)	1.25 ± 0.500	10.1 ± 3.92	74.9 ± 19.9

Abbreviations: AG10 = acoramidis, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, C_{max} = maximum observed concentration, t_{max} = time of maximum observed concentration
Source: 20[redacted]9305, Table 1.1

7.2　代謝を介した薬物相互作用

7.2.1　チトクローム P450 基質

HLM を用いたアコラミジスの in vitro 代謝安定性試験（Penchala, 2013）及びヒト肝細胞を用いたアコラミジスの in vitro 代謝物同定試験（[redacted]906 試験）において、アコラミジスの代謝に CYP はほとんど関与していないことが示された。したがって、CYP フェノタイピング試験は実施しなかった。

7.2.2　可逆的チトクローム P450 阻害

CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 に対する阻害作用を、プールした HLM 及び in vitro 基質カクテルを使用した RapidFire/MS/MS（RF/MS/MS）検出に基づく分析法を用いて評価した（DATED-[redacted]20[redacted] 試験）。50 mM リン酸カリウム緩衝液（pH 7.4）中に最終濃度 0.5% DMSO、プール HLM（0.1 又は 0.2 mg/mL）及び 1 mM NADPH を含有する反応混合物（20 µL）を 37°C で 15 分間インキュベーションした。検討したアコラミジス濃度は 0.2～50 µM であった。定量範囲は、100%酵素活性（NADPH 補酵素添加）～0%活性（補酵素 NADPH

添加なし）として定義した。IC_{50} 値は、シグモイド曲線フィット方程式を使用した非線形回帰により算出した。

CYP2B6 に対する in vitro での阻害作用は、CYP2B6 の選択的基質であるブプロピオンを用い CYP2B6 に対して最適化された分析法で評価した（20[redacted]1213-E005-01 試験）。IC_{50} 値決定のため、アコラミジスを 100% DMSO で溶解した 50 mM 溶液を 100% DMSO で段階希釈（1：3）し、アコラミジスの最高濃度は 50 µM とした。

アコラミジスは検討した 7 種類の主要な CYP 分子種のいずれも阻害しなかった（IC_{50} は 50 µM 超、モジュール 2.6.5.12、Table 43）。

しかしながら、DATED-[redacted]20[redacted] 試験及び 20[redacted]1213-E005-01 試験で検討したアコラミジスの最高濃度は 50 µM であり、CYP3A4 の評価に必要な腸内濃度（972 µM）では実施されていなかった。したがって、FDA（FDA, 2020）及び EMA（EMA, 2012）のガイダンスに従って、CYP3A4/5 では 1.1～1100 µM、その他の CYP では 0.15～150 µM のアコラミジス濃度において、マーカー基質及び 200 名の HLM プールとインキュベーションすることにより CYP アイソザイムを直接的に阻害する可能性を評価した（[redacted]5062 試験）（モジュール 2.6.5.12、Table 44）。

その結果、アコラミジスが CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 を直接的に阻害する証拠は得られなかった。したがって、対応する IC_{50} 値は検討した最高濃度を上回り、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して 150 µM 超、CYP3A4/5 に対して 1100 µM 超であった。

7.2.3 時間依存的及び代謝依存的チトクローム P450 阻害

時間依存的阻害は、アコラミジスを NADPH 非存在下で HLM と 30 分間プレインキュベーションし、その後 CYP 活性を測定することにより評価した（[redacted]5062 試験）。また、アコラミジスが代謝依存的に CYP を阻害する可能性を評価した。試験は、プレインキュベーション後に観察された阻害の増加が、ミクロソームの再分離により、又はミクロソームの再分離前にフェリシアン化カリウムとインキュベーションすることにより可逆的であるかを確認するために実施した。

この試験では、以下の処理群を設定し、インキュベーションはすべて手動で処理した。

- 再分離なし（0.2% DMSO 対照）
- フェリシアン化カリウム添加せず再分離のみ（0.2% DMSO 対照）
- フェリシアン化カリウム添加後再分離（0.2% DMSO 対照）
- 再分離なし（150 µM アコラミジス）
- フェリシアン化カリウム添加せず再分離のみ（150 µM アコラミジス）
- フェリシアン化カリウム添加後再分離（150 µM アコラミジス）

CYP2C8 及び CYP2C9 に対する最大酵素不活性化速度定数（k_{inact}）及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害剤の濃度（K_I）値を決定するために、CYP2C8 に対して 0、5、15、30、80 及び 150 µM、CYP2C9 に対して 0、30、200、400、600 及び 800 µM のアコラミジスを約 0.25 mg/mL のプール HLM 及び NADPH 再生系とともに 0、3、6、9、15 及び 30 分間プレインキュベーションした（n = 2）。プレインキュベーション終了後、プレインキュベーション混合物（20 µL）を、それぞれ CYP2C8 の K_m の約 8.2 倍及び CYP2C9 の K_m の約 9.7 倍のプローブ基質及び NADPH 再生系（最終容積 200 µL）を含む別の容器に添加した（被験物質の直接的阻害効果を最小限に抑えるため被験物質の 10 倍希釈及びミクロソームの 10 倍希釈に相当）。その後、5 分間インキュベーションを継続しプローブ基質から代謝物を生成させ、既に記載した方法により

CYP2C8 及び CYP2C9 の残存活性を測定した。

CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対するアコラミジスの時間依存的又は代謝依存的阻害は認められなかった。したがって、対応する IC_{50} 値は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19 及び CYP2D6 では 150 µM 超、CYP3A4/5 では 1100 µM 超であった（Table 26）。

代謝依存的阻害を確認するためアコラミジスを NADPH 存在下で 30 分間プレインキュベーションした結果、アコラミジスは CYP2C8 及び CYP2C9 の活性をある程度阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 76 µM 及び 100 µM であった（Table 26）。これらの高い IC_{50} 値から、臨床上問題となる薬物相互作用が引き起される可能性は低いと考えられる（モジュール 2.6.5.12、Table 44）。

アコラミジスは CYP2C8 を不活性化し（k_{inact} 値：0.033 ± 0.003 min^{-1}、K_I 値：39 ± 11 µM）、不活性化効率（k_{inact}/K_I）は 0.85 $min^{-1}mM^{-1}$ であった。また、CYP2C9 を不活性化し（k_{inact} 値：0.049 ± 0.001 min^{-1}、K_I 値：210 ± 10 µM）、不活性化効率（k_{inact}/K_I）は 0.23 $min^{-1}mM^{-1}$ であった（モジュール 2.6.5.12、Table 45）。

Table 26: **ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP に対するアコラミジスの時間依存的及び代謝依存的阻害作用の in vitro 評価**

Enzyme	Substrate	Time-dependent Inhibition		Metabolism-dependent Inhibition [c]	
		30-min Preincubation without NADPH		30-min Preincubation with NADPH	
		IC_{50} (µM) [a]	Maximum Inhibition (%) [b]	IC_{50} (µM) ± SE [a]	Maximum Inhibition (%) [b]
CYP1A2	Phenacetin	> 150	2.8	> 150	7.3
CYP2B6	Efavirenz	> 150	1.6	> 150	7.4
CYP2C8	Amodiaquine	> 150	28	76 ± 6	64
CYP2C9	Diclofenac	> 150	NA [d]	100 ± 20	53
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	> 150	6.4	> 150	13
CYP2D6	Dextromethorphan	> 150	2.5	> 150	8.9
CYP3A4/5	Midazolam	> 1100	12	> 1100	16
CYP3A4/5	Testosterone	> 1100	16	> 1100	24

Abbreviations: CYP = cytochrome P450, IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration, NA = Not applicable, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, SE = standard error

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

[b] Inhibition observed (%) is calculated with the following formula for the concentration of inhibitor demonstrating the most inhibition (results are rounded to two significant figures): Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

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

[d] No value was obtained as the rates at the highest concentration of AG10 evaluated (150 µM) were higher than the control rates.

Source: [redacted]5062

7.2.4 チトクローム P450 誘導

凍結保存した 3 ドナーの初代ヒト肝細胞（PHH）を用いて CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の発現に対するアコラミジス（0.15～150 µM）の作用を評価した（[redacted]3075 試験）。酵素発現は mRNA の発現量によって評価した。典型的な誘導剤であるオメプラゾール、フェノバルビタール及びリファンピシンを陽性対照とし、フルマゼニルを陰性対照として使用した。細胞毒性は乳酸脱水素酵素（LDH）の放出量で評価した。培地中のアコラミジス濃度は、肝細胞とのインキュ

ベーションの最終日に測定した。

培養ヒト肝細胞を最高 150 μM のアコラミジスで連続 3 日間処理した場合、LDH の放出はほとんど又は全く増加しなかった。さらに、肝細胞の形態に顕著な変化は観察されなかった。

いくつかの例外を除き、アコラミジスにより 150 μM までの濃度で処理した場合、mRNA の発現量によって測定した CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導は、ほとんど又は全く認められなかった（モジュール 2.6.5.12、Table 42）。培養ロット HC5-27 を 150 μM のアコラミジスで処理した場合、CYP1A2 の mRNA 発現量が 2.69 倍変化し、陽性対照のオメプラゾールの 2.13%に相当した。培養ロット HC10-23 及び HC5-27 を 150 μM のアコラミジスで処理した場合、CYP3A4 の mRNA 発現量がそれぞれ 3.91 倍及び 2.35 倍変化し、陽性対照のリファンピシンのそれぞれ 5.40%及び 1.62%に相当した。

7.2.5 UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼフェノタイピング

アコラミジスの in vitro 代謝を評価し、アコラミジスからアコラミジス-AG への代謝に関与する UGT 分子種を同定するために、アコラミジス（1、10 及び 100 μM）をウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸（UDPGA）を添加した HLM とインキュベーションした（[redacted]4016 試験）。アコラミジス-AG 濃度は、LC-MS/MS 法により測定した。全体的に、インキュベーション時のアコラミジス濃度に関係なく、同様なアコラミジスの消失が認められた。1 mg/mL の HLM で 120 分間インキュベーションしたときにアコラミジス（1、10 及び 100 μM）の消失が最大となり、アコラミジスの消失量はそれぞれ 34.0%、35.3%及び 25.0%であった。UDPGA 補酵素又はミクロソームタンパクの非存在下では、アコラミジスの消失は認められなかった。アコラミジス-AG の生成量は、インキュベーション中のミクロソームタンパク量に比例したが、インキュベーション時間に対しては 60 分を超えるインキュベーション時間で減少した。各インキュベーションで生成したアコラミジス-AG の量（pmol）は、3 濃度でのアコラミジスの消失量（pmol）とほぼ相関していた。

アコラミジスからアコラミジス-AG への代謝に関与する UGT 分子種を特定するため、アコラミジス（1 及び 10 μM）を遺伝子組換え UGT（rUGT）のパネル（すなわち、rUGT1A1、rUGT1A3、rUGT1A4、rUGT1A6、rUGT1A9、rUGT2B7、rUGT2B10 及び rUGT2B15）とインキュベーションした。これらの条件下でアコラミジスの消失が最大であったのは、rUGT1A9 存在下であり、1 及び 10 μM でのアコラミジスの消失量はそれぞれ 21.1%及び 18.9%であった。その他の rUGT 分子種の存在下でのアコラミジスの消失量は 11%未満であった。アコラミジス 1 μM でアコラミジス-AG の生成量が最大であったのは rUGT1A9（59.9 pmol）であり、次いで rUGT2B7（30.0 pmol）及び rUGT1A1（16.6 pmol）であった。同様に、アコラミジス 10 μM でのアコラミジス-AG の生成量は、rUGT1A9（467 pmol）、rUGT2B7（286 pmol）及び rUGT1A1（149 pmol）の順であった。また、程度は低いものの rUGT1A3（11.2 pmol）、rUGT1A4（48.9 pmol）、rUGT1A6（3.95 pmol）、rUGT2B10（1.13 pmol）及び rUGT2B15（2.27 pmol）でもアコラミジス-AG の生成が認められた（モジュール 2.6.5.15、Table 52 及び Table 53）。

In vitro 試験（[redacted]4016 試験）で得られた各 UGT 分子種のアコラミジス-AG 生成速度と文献（Margaillan, 2015）から得られた各 UGT 分子種のヒト肝臓における存在量から各 UGT 分子種の寄与率を推定したところ、寄与率は UGT2B7、UGT1A9 及び UGT1A1 の順で高く、それぞれ 53.1%、28.2%及び 13.3%と推定された（Table 27）。さらに、ヒト ADME 試験（AG10-007 試験 CSR）の結果から、アコラミジス-AG は糞中にほとんど排泄されず、尿中に投与量の 30.8%が排泄されることが示されており、この尿中排泄率と寄与率から本薬の消失全体に占める UGT2B7、

UGT1A9 及び UGT1A1 の寄与する割合を推定したところ、それぞれ 16.3%、8.67%及び 4.10%と推定され、いずれの値も 25%未満であった。

Table 27: アコラミジス-AG の生成に対する各 UGT 分子種の寄与率

Isozyme	Mean Rate of Acoramidis-AG Formation (pmol/min/mg) [a]	Specific Content of UGTs in Human Liver (pmol/mg protein)[b]	Mean Rate of Acoramidis-AG Formation Normalized to Liver UGT Content (NR) (pmol/min)[c]	In Vitro Contribution Estimated Based on Normalized Rate (% TNR)[d]	Acoramidis-AG in Urine (%)[e]	In Vivo Contribution of UGTs to Acoramidis-AG Total Urinary Excretion (%)[f]
UGT1A1	12.4	33.0	409	13.3	30.8	4.10
UGT1A3	0.934	7.25	6.77	0.22	30.8	0.068
UGT1A4	4.07	37.4	152	4.95	30.8	1.52
UGT1A6	0.329	9.55	3.14	0.102	30.8	0.031
UGT1A9	38.9	22.3	866	28.2	30.8	8.67
UGT2B7	23.8	68.6	1631	53.1	30.8	16.3
UGT2B10	0.094	6.15	0.578	0.019	30.8	0.006
UGT2B15	0.189	29.5	5.58	0.181	30.8	0.056
Total			3075	100		30.8

[a] Values from [redacted]4016, Table 6.
[b] Average of values reported by (Margaillan et al., 2015).
[c] Obtained by multiplying mean rate of acoramidis-AG formation with specific content of UGTs in human liver.
[d] Obtained by dividing NR for each isozyme by total NR (TNR).
[e] The mean parent-equivalent cumulative dose of acoramidis excreted in urine as acoramidis-AG is 30.8% (AG10-007).
[f] Obtained by multiplying %TNR with the mean parent-equivalent cumulative dose of acoramidis excreted in urine as acoramidis-AG.

UGT2B7 及び UGT1A9 は薬物により誘導されるとの報告がある（Barbier, 2003、Hu, 2014）。しかしながら、アコラミジス-AG の生成には複数の UGT 分子種が関与しており、UGT2B7 及び UGT1A9 の in vivo での寄与率はそれぞれわずか 16.3%及び 8.67%と推定されたことから、これら酵素の誘導が臨床的に問題となる DDI を引き起こす可能性は低いと推測される。

7.2.6 UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ阻害

アコラミジスが併用投与された薬物の代謝を阻害する可能性を評価するため、HLM を用いて主要な UGT（すなわち、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7 及び UGT2B15）に対する阻害作用を検討した（[redacted]5022 試験）。アコラミジス有無の条件下でマーカー基質及び 200 名の HLM プールとインキュベーションすることによりアコラミジスが UGT 活性を直接的に阻害する可能性を評価した。UGT の直接的阻害剤であるトログリタゾンを陽性対照として使用した。

検討した条件下で、アコラミジスは UGT1A9 を直接的に阻害し、その IC_{50} 値は 150 µM であった（モジュール 2.6.5.12、Table 46）。UGT1A1 及び UGT2B7 に対してそれぞれ最大 35%及び 21%の直接的阻害作用が確認されたが、IC_{50} 値は検討した最高濃度である 200 µM 超であった。検討したその他の UGT に対しては直接的阻害作用を示さなかった。

さらに、組換え UGT（すなわち、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7 及び UGT2B15）を用いてアコラミジスの阻害作用を評価した（[redacted]5073 試験）。

検討した条件下で、アコラミジスは UGT1A9 を直接的に阻害し、その IC_{50} 値は 40 µM であった（モジュール 2.6.5.12、Table 47）。また、アコラミジスは UGT1A1 及び UTG2B7 を直接的にそれぞれ最大 30%及び 25%阻害し、IC_{50} 値は検討した最高濃度である 150 µM 超であった。検討し

た条件下で、アコラミジスは UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B15 に対して直接的な阻害作用を示さなかった。

7.3 トランスポーターを介した薬物相互作用

7.3.1 Caco-2 細胞におけるアコラミジスの透過及び輸送

Caco-2 細胞を用いてアコラミジス（1、10 及び 50 μM）の両方向の輸送について評価した（20[redacted]0810-E005-01 試験）。5%CO_2 雰囲気下、ハンクス平衡塩類緩衝液（HBSS、pH 7.4）中 37ºC で 1 時間インキュベーションした。内部標準ブセチンを含むクエンチ溶液を添加後、LC-MS/MS 法により分析した。試験系の適合性は、対照物質であるジゴキシン及びプロプラノロールにより確認した。アコラミジス（1、10 及び 50 μM）の A→B 方向の P_{app} はそれぞれ $0.04 \pm 0.01 \times 10^{-6}$ cm/s、$0.04 \pm 0.00 \times 10^{-6}$ cm/s 及び $0.07 \pm 0.01 \times 10^{-6}$ cm/s であった（モジュール 2.6.5.15、Table 54）。アコラミジス（1、10 及び 50 μM）の B→A 方向の P_{app} はそれぞれ $17.0 \pm 0.20 \times 10^{-6}$ cm/s、$14.0 \pm 0.41 \times 10^{-6}$ cm/s 及び $12.0 \pm 0.33 \times 10^{-6}$ cm/s であり、efflux ratio はそれぞれ 421、347 及び 181 であった。これらの結果から、アコラミジスは排出トランスポーターの基質であることが示された。

Caco-2 細胞を用いて、P-gp による薬物輸送をアコラミジスが阻害する可能性について評価した（EIDOS 20[redacted]0921-CAPGPI 試験）。継代数 36 の Caco-2 細胞を 96 ウエル輸送インサートに播種し、輸送試験開始前 24 日間培養した。アコラミジス（0.05～100 μM）の有無の条件下で、P-gp の基質であるジゴキシンの両方向の透過性及び efflux ratio を測定した（モジュール 2.6.5.15、Table 55）。分析には LC-MS/MS 法を用いた。アコラミジス有無でのジゴキシンの efflux ratio から P-gp 活性（%）を算出し、アコラミジス濃度に対してプロットすることにより IC_{50} を求めた。アコラミジスは P-gp を介したジゴキシンの輸送を阻害せず、IC_{50} 値は 100 μM 超であった。

7.3.2 トランスポーターの基質としての確認

アコラミジスがヒト OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、BCRP,、P-gp 又は BSEP により輸送されるか評価した（[redacted]-20[redacted]-163 試験）。溶質キャリア（SLC）ファミリーである OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K による取込み試験系は透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は、目的のトランスポーターを発現するように処理するか、又は対照ベクターで処理した。BCRP に対する細胞アッセイ系では、透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は BCRP を発現するように処理され、対照細胞は使用しなかった。P-gp に対する細胞アッセイ系では、透過性支持体上で増殖させた多剤耐性タンパク質 1 発現イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞株（MDCK-MDR1）細胞の分極単層膜を使用した。BCRP、P-gp 及び BSEP の試験系では目的のヒトトランスポーターを含む *Spodoptera frugiperda* 細胞株から樹立した細胞株（Sf9）膜小胞を用いた。膜小胞は懸濁液として 96 ウエル平底アッセイプレートに添加し、96 ウエルガラス繊維ろ過プレートによって反応混合物から分離した。各基質の輸送は放射能検出によって測定した。試験は、上記の BCRP、P-gp 及び BSEP アッセイを除き、トランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターで処理した細胞について同じ条件下で実施した。試験実施前に、0.1%ウシ血清アルブミン（BSA）有無の条件下で非特異的結合を評価し、どちらの場合においても妥当な回収率を示した。したがって、トランスポーターに関する試験は、0.1% BSA を添加せずに実施した。

試験で使用したプローブ基質（陽性対照）は、2 μM p-アミノ馬尿酸（OAT1）、100 nM エストロン-3-硫酸（OAT3）、2 μM MPP+（OCT1）、10 μM メトホルミン（OCT2、MATE1、MATE2-K）、2 μM エストラジオール-17ß-D-グルクロニド（OATP1B1）、2 μM CCK-8（OATP1B3）、2 μM プラゾシン（BCRP）、100 nM キニジン（P-gp）及び 1 μM タウロコール酸（BSEP）であった。使用した参照阻害剤は、100 μM プロベネシド（OAT1、OAT3）、1000 μM キニジン（OCT1、OCT2）、100 μM リファンピシン（OATP1B1、OATP1B3）、100 μM シメチジン（MATE1、MATE2-K）、1 μM Ko143（BCRP）、3 μM エラクリダール（P-gp）及び 300 μM リファンピシン（BSEP）であった（モジュール 2.6.5.15、Table 56～Table 62）。

結果を以下に要約する。

OAT1：

アコラミジス 3 μM において、OAT1 トランスフェクト細胞では対応する対照細胞よりも 14.6 倍高いアコラミジスの取込みが観察された。阻害剤であるプロベネシドを添加すると、87.5%の阻害が認められた。さらに、アコラミジス 30 μM において、OAT1 トランスフェクト細胞では対応する対照細胞よりも 6.15 倍高いアコラミジスの取込みが観察された。以上の結果から、アコラミジスは OAT1 の基質であることが示された。

OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K：

アコラミジス 0.3、3 及び 30 μM において、対照細胞と比較して、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K をトランスフェクトした細胞での取込みの差は 2 倍未満であった。各トランスポーターの阻害剤の存在下でアコラミジス 3 μM をインキュベーションしても、取込み量に変化は認められなかった（2 倍未満）。したがって、規制ガイダンスに従い、検討した条件下でアコラミジスはヒト OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K の臨床的に意義のある基質ではなかった。

BCRP：

BCRP トランスフェクト細胞でのアコラミジス 0.3、3 及び 30 μM の efflux ratio はそれぞれ 22.9、10.5 及び 7.09 であった。アコラミジス 3 μM に阻害剤 Ko143 を添加すると 97.4%の阻害が観察された。これらの結果から、アコラミジスは BCRP の基質であることが示された。また、対照細胞でも検討しており、net flux ratio（BCRP トランスフェクト細胞での efflux ratio／対照細胞での efflux ratio）はアコラミジス 0.3、3 及び 30 μM に対してそれぞれ 16.0、11.6 及び 10.6 であった。アコラミジス 3 μM に阻害剤 Ko143 を添加すると 99.0%の阻害が観察された。これらの結果から、アコラミジスは BCRP の基質であることが確認された。

P-gp：

P-gp に対するアコラミジス 0.3、3 及び 30 μM の efflux ratio は 2.0 未満であり、アコラミジスは P-gp の臨床的に意義のある基質ではないことが示された。

BSEP：

アコラミジス 0.3、3 及び 30 μM において、アデノシン一リン酸（AMP）を添加した小胞と比較してアデノシン三リン酸（ATP）を添加した小胞では 2 倍未満の取込み差が観察され、これらの条件下では、アコラミジスは BSEP の基質ではないことが示された。

以上の結果に基づいて、OAT1 及び BCRP によるアコラミジスの輸送動態についてさらに評価した。

ヒト OAT1 に対するアコラミジスの K_m 及び V_{max} を決定するために、取込み試験系として透過

性支持体の上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した（[redacted]-20[redacted]-243 試験）。MDCK-II 細胞を、対象のトランスポーターが発現するようにトランスフェクトするか、又は対照ベクターをトランスフェクトした。5 分間のインキュベーション後、細胞内へのアコラミジスの蓄積を 0.1～100 μM の濃度範囲で測定した。細胞抽出液中の濃度は LC-MS/MS 法によって測定した。非線形回帰分析を使用して、細胞内濃度対培地中濃度のプロットからアコラミジスの速度論的パラメータを算出した。試験は、トランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターでトランスフェクトした細胞に対して同じ条件下で実施した。その結果、K_m 値は 28.5 μM、V_{max} 値は 45.4 pmol/min/cm^2 であった（モジュール 2.6.5.15、Table 63）。

BCRP トランスフェクト細胞及び対照細胞を用いて、アコラミジス（最高 100 μM）が BCRP の基質であるか評価した（[redacted] 20[redacted]-242 試験）。

BCRP を発現した MDCK 細胞の場合、P_{app} 値は濃度範囲全体で比較的一定であり、P_{app} B→A は約 30 x 10^{-6} cm/s、Papp A→B は約 0.7 x 10^{-6} cm/s であった。対照細胞の場合、P_{app} 値は濃度範囲全体で比較的一定であり、P_{app} B→A は約 8.5 x 10^{-6} cm/s、Papp A→B は約 3.0 x 10^{-6} cm/s であった。0.1 及び 0.3 μM の濃度では、A→B 輸送は定量限界（3 nM）を下回ったため、これらの濃度では efflux ratio は算出できなかった。net flux ratio（BCRP トランスフェクト細胞での efflux ratio／対照細胞での efflux ratio）は 19.6（アコラミジス 1 μM）～10.9（アコラミジス 100 μM）の範囲であった。

BCRP 発現細胞及び対照細胞でのアコラミジスの輸送は検討した濃度範囲で比較的直線的であり、最高濃度（100 μM）においても飽和の兆候は認められなかった。B→A flux から A→B flux を差し引いて net flux を算出し、次に BCRP 発現細胞の net flux から対照細胞の net flux を差し引いて net flux を算出しても、BCRP の飽和の兆候は認められなかった。したがって、K_m 値は 100 μM 超であり、V_{max} 値は算定できなかった（モジュール 2.6.5.15、Table 64）。

7.3.3 トランスポーター阻害

ヒト OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、BCRP、P-gp 及び BSEP を介した輸送に対するアコラミジス（30 μM）の阻害作用を評価した（[redacted]-20[redacted]-162 試験）。SLC ファミリーである OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K の取込み試験系は透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は、目的のトランスポーターを発現するように処理するか、又は対照ベクターで処理した。BCRP に対する細胞アッセイ系では、透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は BCRP を発現するように処理され、対照細胞は使用しなかった。P-gp に対する細胞アッセイ系では、透過性支持体上で増殖させた MDCK-MDR1 細胞の分極単層膜を使用した。BCRP、P-gp 及び BSEP の試験系では目的のヒトトランスポーターを含む Sf9 膜小胞を用いた。膜小胞は懸濁液として 96 ウエル平底アッセイプレートに添加し、96 ウエルガラス繊維ろ過プレートによって反応混合物から分離した。

各基質の輸送は放射能検出によって測定した。試験は、上記の BCRP、P-gp 及び BSEP アッセイを除き、トランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターで処理した細胞について同じ条件下で実施した。このアッセイで使用したプローブ基質は、2 μM [^{3}H]-p-アミノ馬尿酸（OAT1），100 nM [^{3}H]-エストロン-3-硫酸（OAT3）、2 μM [^{3}H]-MPP+（OCT1）、10 μM [^{14}C]-メトホルミン（OCT2、MATE1、MATE2-K）、2 μM [^{3}H]-エストラジオール-17ß-D-グルクロニド（OATP1B1）及び 2 μM [^{3}H]-CCK-8（OATP1B3）であった。MDCK-II 細胞における BCRP 及び P-gp による輸

送の阻害を評価するために使用した基質は、2 μM プラゾシン（BCRP）及び 100 nM キニジン（P-gp）であった。膜小胞の試験系における BCRP、P-gp 及び BSEP による輸送の阻害を評価するために使用した基質は、1 μM CCK-8（BCRP）、0.1 μM CCK-8（P-gp）及び 1 μM タウロコール酸（BSEP）であった。使用した参照阻害剤は、100 μM プロベネシド（OAT1 及び OAT3）、1000 μM キニジン（OCT1 及び OCT2）、100 μM リファンピシン（OATP1B1 及び OATP1B3）、100 μM シメチジン（MATE1 及び MATE2-K）、1 μM Ko143（BCRP[MDCK]）、10 μM BSP (BCRP[小胞])、3 μM エラクリダール（P-gp[MDCK]）、10 μM BSP（P-gp[小胞]）及び 300 μM リファンピシン（BSEP）であった。

ヒト OCT1、OCT2、OATP1B3、MATE2-K 及び BSEP を介したプローブ基質の輸送に対して有意な阻害作用は認められなかった。一方、OAT1（89.8%）、OAT3（94.2%）、OATP1B1（30.9%）及び MATE1（43.0%）を介した輸送を阻害した（モジュール 2.6.5.15、Table 65～Table 67）。膜小胞系で評価した結果、ヒト BCRP 及び P-gp を介したプローブ基質の輸送に対して有意な阻害作用は認められなかった。MDCK-II 細胞系では、BCRP による排出にわずかな阻害（13.9%）が観察されたが、P-gp による排出ではわずかな増加（22.5%増加）が認められた。

これらの結果から、ヒト OAT1、OAT3 及び MATE-1 を介した輸送に対するアコラミジスの IC_{50} 値を算出した（[redacted]-20[redacted]-068 試験）。SLC ファミリーである OAT1、OAT3 及び MATE1 取込み試験系は透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は、目的のトランスポーターを発現するように処理するか、又は対照ベクターで処理した。各基質の輸送は放射能検出によって測定した。試験は、トランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターで処理した細胞について同じ条件下で実施した。プローブ基質として 2 μM p-アミノ馬尿酸（OAT1）、0.1 μM エストロン-3-硫酸（OAT3）及び 10 μM メトホルミン（MATE1）を使用し、阻害剤には 100 μM プロベネシド（OAT1、OAT3）及び 100 μM シメチジン（MATE1）を使用した。

OAT1 及び OAT3 を介した輸送では、アコラミジスの濃度範囲 0.3～100 μM で評価した。観察された最大阻害は 100 μM のアコラミジスで、OAT1 及び OAT3 に対してそれぞれ 97.4%及び 99.0%であった。OAT1 及び OAT3 に対するアコラミジスの IC_{50} 値はそれぞれ 1.39 及び 1.26 μM であった（モジュール 2.6.5.15、Table 68）。アコラミジスによる OAT3 を介した輸送阻害を、ヒト OAT3 阻害剤として十分に確立されているプロベネシドによる阻害と比較した（[redacted]-20[redacted]-115 試験）。アコラミジス及びプロベネシドの IC_{50} 値はそれぞれ 1.40 及び 5.69 μM であった（モジュール 2.6.5.15、Table 69）。

MATE1 を介した輸送では、アコラミジスの濃度範囲 1～200 μM で評価した。観察された最大阻害は 200 μM のアコラミジスで 52.8%であった。50%を超える阻害を示した濃度は 1 濃度だけであったため、IC_{50} 値は 178 μM と推定された（モジュール 2.6.5.15、Table 68）。

7.3.4 代謝物によるトランスポーター阻害

ヒト OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対するアコラミジス-AG の阻害作用を評価した（[redacted]-20[redacted]-069 試験）。SLC ファミリーである OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の取込み試験系は透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は、目的のトランスポーターを発現するように処理するか、又は対照ベクターで処理した。各基質の輸送は放射能検出によって測定した。試験はトランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターで処理した細胞について同じ条件下で実施した。プローブ基質として 2 μM p-アミノ馬尿酸（OAT1）、0.1 μM エストロン-3-硫酸（OAT3）及び 10 μM メトホ

ルミン（OCT2、MATE1 及び MATE2-K）を使用し、阻害剤には 100 μM プロベネシド（OAT1 及び OAT3）、1000 μM キニジン（OCT2）及び 100 μM シメチジン（MATE1 及び MATE2-K）を使用した。

20 μM のアコラミジス-AG 存在下で、OCT2 及び MATE2-K を介した輸送に対して有意な阻害作用は認められなかった。一方、OAT1（22.8%）、OAT3（63.5%）及び MATE1（32.3%）を介した輸送で阻害が確認された（モジュール 2.6.5.15、Table 70）。

これらの結果から、ヒト OAT3 を介した輸送に対するアコラミジス-AG の IC_{50} 値を算出した（[redacted]-20[redacted]-142 試験）。OAT3 による取込み試験系として透過性支持体上で増殖させた MDCK-II 細胞の分極単層膜を使用した。MDCK-II 細胞は、目的のトランスポーターを発現するように処理するか、又は対照ベクターで処理した。プローブ基質の輸送は放射能検出によって測定した。試験はトランスポーターを発現した細胞又は対照ベクターで処理した細胞について同じ条件下で実施した。プローブ基質として 0.1 μM エストロン-3-硫酸、阻害剤として 100 μM プロベネシドを使用した。最高 100 μM までのアコラミジス-AG で検討した結果、IC_{50} 値は 36.7 μM であった（モジュール 2.6.5.15、Table 71）。

8　その他の薬物動態試験

8.1　ビーグル犬に経口投与したときのアコラミジスの PK/PD 評価

雌雄のビーグル犬を用いて、アコラミジスの薬物動態／薬力学的作用（PK/PD）を評価した（EID-[redacted]01 試験）。この試験では 3 群（n = 2／性／群）を設定し、1 及び 2 群にはアコラミジス（0.5%メチルセルロース中）をそれぞれ 5 及び 20 mg/kg の用量で投与した。3 群にはアコラミジス（ゼラチンカプセル中）を 20 mg/kg の用量で投与した。PK/PD 相関図をモジュール 2.6.2.2、Figure 21 に示す。In vivo 薬力学的作用及び PK パラメータをモジュール 2.6.5.16、Table 72 に示す。0.5%メチルセルロース懸濁液又は賦形剤を含まないゼラチンカプセルとして同用量のアコラミジスを経口投与したときのアコラミジスの血漿中曝露量は同程度であった。

8.2　雄性ビーグル犬にアコラミジスの錠剤又はカプセルを経口投与したときの薬物動態

4 匹の雄性イヌにアコラミジス 50 mg 錠、200 mg 錠及び 200 mg カプセルを経口投与した（ZT-0001-DA-DE 試験）。投与前並びに投与約 0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、72 及び 96 時間後に血液を採取した。血漿中アコラミジス濃度を LC-MS/MS 法で測定した。対応のない t 検定で解析した結果、イヌにアコラミジスの 200 mg 錠と 200 mg カプセルを投与したときの C_{max} 及び AUC_{inf} に有意差（$p < 0.05$）は認められなかった（C_{max} 及び AUC_{inf} に対する p 値はそれぞれ 0.0788 及び 0.0995）（モジュール 2.6.5.16、Table 73）。

8.3　ビーグル犬に異なる錠剤を経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

アコラミジスの異なる錠剤をイヌに経口投与したときの PK を評価した（EID-[redacted]01）。この試験では 12 匹の雄性ビーグル犬を 4 匹ずつ 3 群に分けて使用した。各動物には、アコラミジス投与の 30 分前にペンタガストリンを筋肉内投与した。次に、以下のように各群のイヌにアコラミジスを単回経口投与した。1 群：200 mg 錠を 2 錠（アコラミジスとして合計 400 mg）、2 群：711 mg コア錠を 1 錠（アコラミジス 400 mg 含有）及び 3 群：533 mg コア錠を 1 錠（アコラミジス 400 mg 含有）。症状観察を毎日実施し（Day -3～Day 3）、Day 0 の投与前に体重を測定した。PK 用の血液を投与前並びに投与 0.5、1、2、4、8、24、48 及び 72 時間後に採取した。血漿中のアコラミジス濃度を測定し、その PK パラメータをモジュール 2.6.5.16、Table 74 に示す。

試験した条件下で、200 mg 錠 2 錠、711 mg コア錠又は 533 mg コア錠のいずれかをイヌに投与したときのアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量は類似していた（Table 28）。統計解析（GraphPad Prism 7.0 を用いた対応のない t 検定）により、イヌにアコラミジスの 200 mg 錠 2 錠を投与したときと、711 mg コア錠 1 錠を投与したときの C_{max} 及び AUC_{inf} に有意差（$p < 0.05$）は認められなかった（C_{max} 及び AUC_{inf} に対する p 値はそれぞれ 0.8436 及び 0.7967）。同様に、イヌにアコラミジスの 200 mg 錠 2 錠を投与したときと、533 mg コア錠 1 錠を投与したときの C_{max} 及び AUC_{inf} に有意差（$p < 0.05$）は認められなかった（C_{max} 及び AUC_{inf} に対する p 値はそれぞれ 0.5130 及び 0.8306）。

Table 28: 異なる錠剤を経口投与したときのイヌ血漿中アコラミジスの薬物動態パラメータ（平均値±SD）

Treatment	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{inf} (µg•h/mL)
2 x 200 mg tablets (total 400 mg acoramidis)	18.3 ± 3.69	1.25 ± 0.500	26.3 ± 5.34	215 ± 85.8
711 mg Core tablets (total 400 mg acoramidis)	16.1 ± 2.07	1.25 ± 0.500	25.2 ± 9.52	229 ± 55.3
533 mg Core tablets (total 400 mg acoramidis)	16.8 ± 4.10	1.50 ± 0.577	24.4 ± 0.762	205 ± 26.3

Abbreviations: AUC_{inf} = area under the concentration-time curve from hour 0 to infinity, C_{max} = maximum observed concentration, SD = standard deviation, $t_{1/2}$ = elimination half-life, t_{max} = time of maximum observed concentration
Source: EID-[redacted]01, Table 1.1

8.4 ビーグル犬に異なる徐放性製剤を経口投与したときのアコラミジスの薬物動態

イヌに異なる徐放性製剤を経口投与したときのアコラミジスの PK を評価した（EID-[redacted]02 試験）。この試験では、8 匹の雄性ビーグル犬にアコラミジスを 2 期に分けて投与し、1 期と 2 期の間に 2 週間の休薬期間を設定した。最終的に、4 匹／群の 4 群を設定した。各動物には、アコラミジス投与の 30 分前にペンタガストリンを筋肉内投与した。1 期の 1 群に ER-55A 錠を、1 期の 2 群に ER-59 錠を投与した。PK 解析用の血液を投与前並びに投与 0.5、1、2、4、6、8、24、48、72 及び 96 時間後に採取した。2 週間の休薬期間後、2 期の 3 群（1 期の 1 群のイヌに相当）に ER-62 錠を、2 期の 4 群（1 期の 2 群のイヌに相当）に ER-66 錠を投与した。PK 解析用の血液は、1 期と同様に採取した。

統計解析（GraphPad Prism 7.0 を用いた対応のない t 検定）により、イヌにそれぞれ 200 mg のアコラミジスを含有する異なる徐放性製剤 ER-55A、ER-59、ER-62 及び ER-66 錠を投与したときの投与 24 時間後の血漿中濃度（C_{24}）の値（モジュール 2.6.5.16、Table 75）は、アコラミジス 200 mg の即時放出錠の C_{24} 値と有意差（$p < 0.05$）はなかった（p 値はそれぞれ 0.5386、0.1675、0.8613 及び 0.5455）。

9　考察及び結論

マウス、ラット、イヌ及びサルにアコラミジスを静脈内投与したときの CL は低く、V_{ss}は小さかった。$t_{1/2}$ は比較的長く 5.32～19.4 時間であった。経口投与したとき速やかに C_{max} に達し、t_{max} は検討した動物種で 0.500～2.67 時間であった。アコラミジスの経口投与での吸収は良好であり、絶対的バイオアベイラビリティは 30.5%～59.7%であった。

オメプラゾール及びペンタガストリンはイヌにおけるアコラミジスの吸収及び血漿中曝露量に対して有意な影響を示さなかった。Sprague Dawley ラットを用いた吸収部位に関する検討の結果、アコラミジスの主要な吸収部位は結腸であり、これよりもわずかに低い程度で胃及び十二指腸でも吸収されたが、回腸では吸収されなかった。

ラット、イヌ及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスにアコラミジスを反復投与したとき、概してアコラミジスの血漿中曝露量に性差は認められず（2 倍未満の差）、若干の例外を除いて、アコラミジスの血漿中曝露量は用量増加に伴い概ね用量比例的に増加した。短期間の反復投与後に蓄積は認められなかったが、長期間の反復投与後にラット及びイヌで若干の蓄積が認められた。

アコラミジスはタンパクとの結合性が高く、血漿タンパク結合率は検討した動物種で 87%～99%の範囲であった。血球移行性に顕著な種差や濃度依存性は認められず、アコラミジスは脳内に分布しなかった。経口投与後の有色 Long Evans 雄性ラットでの[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の組織分布は広範囲に及び、C_{max} が高かった組織は、肝臓、動脈壁、副腎、腎臓（腎皮質を含む）及び胃であった。C_{max} が低かった組織は、脳室周囲器官を除く中枢神経系組織、腹部脂肪、精嚢、鼻甲介及び精巣であった。試験の全期間を通して、延髄及び臭葉では放射能は検出されなかった。検討した組織中に放射能の蓄積や滞留は観察されなかった。さらに本試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能は有色ラットのメラニン含有組織と選択的に結合しないことも示唆された。

ラット及びイヌに[^{14}C]-アコラミジスを単回経口投与したとき、グルクロン酸抱合が主な代謝経路であり、酸化及びグリシン抱合は副次的な代謝経路であった。これは、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用いた in vitro 試験の結果と一致していた。ラット及びイヌの血漿、尿及び糞中の主要成分はアコラミジスであった。ラットの血漿及び胆汁中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合体であり、次にアシルグルクロン酸抱合体の異性体であった。イヌの循環血中に最も多く存在した代謝物はアコラミジスの直接的なアシルグルクロン酸抱合体であり、少量ではあるが尿中にも検出された。

アコラミジスの主要な代謝物は、合成標準品との比較から、1-ß-D-アシルグルクロン酸抱合体の異性体として同定された。アシルグルクロン酸抱合体の反応性の代替指標としてアコラミジス-AG のリン酸緩衝液中の安定性を評価した。その結果、半減期は 161 分であり、アコラミジス-AG は共有結合する可能性は低いと考えられた。さらに、ウエスタンブロット TTR 安定化アッセイにより、アコラミジス-AG の活性はアコラミジスの 24%～34%であることが示された。

ラット 26 週間及びイヌ 39 週間慢性毒性試験において代謝物アコラミジス-AG の曝露量を測定し、毒性試験で使用された動物種においてヒトでの代謝物曝露量が担保されていることが確認された（Table 29）。

Table 29: ラット、イヌ及びヒトにおけるアコラミジス-AG の in vivo 曝露量の比較

Type of Study	Total (Free and Bound) Animal Exposure at NOAEL	Total (Free and Bound) Human Exposure at 800 mg	Acoramidis-AG Safety Margin at NOAEL
26-week oral Rat (NOAEL at 600 mg/kg/day in both genders)	Total C_{max} = 117 µg/mL [a]	Total C_{max} = 9.82 µg/mL [b]	Total C_{max} ratio: 117/9.82 = 12
	Total AUC_{last} = 991 µg•h/mL [c]	Total AUC_{24h} = 62.0 µg•h/mL [d]	Total AUC ratio: 991/62 = 16
9-month oral Dog (NOAEL at 250 mg/kg/day in both genders)	Total C_{max} = 185 µg/mL [e]	Total C_{max} = 9.82 µg/mL [b]	Total C_{max} ratio: 185/9.82 = 19
	Total AUC_{last} = 818 µg•h/mL [f]	Total AUC_{tau} = 31.0 µg•h/mL [g]	Total AUC ratio: 818/31.0 = 26

Abbreviations: AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to time of the last measured concentration, AUC_{tau} = area under the concentration-time curve over the dosing interval, C_{max} = maximum observed concentration
[a] Sex combined C_{max} values of acoramidis-AG on Day 182, Source: 20[redacted]1689, Table 5.
[b] Human mean C_{max} exposure of acoramidis-AG on Day 12 in AG10-001 study (800 mg q12h). Source: AG10-001, Table 14.2.1.2.6.7.
[c] Sex combined AUC_{last} (AUC_{24h}) values of acoramidis-AG on Day 182, Source: 20[redacted]1689, Table 5.
[d] AUC_{24h} of 62.0 µg•h/mL calculated as AUC_{tau} x 2 (AUC_{tau} = 31.0 µg•h/mL) in human clinical study AG10-001 (MAD) on Day 12 at 800 mg (q12h). Source: AG10-001, Table 14.2.1.2.6.7.
[e] Sex combined C_{max} values of acoramidis-AG on Day 273, Source: 20[redacted]1692 Table 6.
[f] Sex combined AUC_{last} (AUC_{12h}) values of acoramidis-AG on Day 273, Source: 20[redacted]1692 Table 6.
[g] AUC_{tau} of 31.0 µg•h/mL in human clinical study AG10-001 (MAD) on Day 12 at 800 mg (q12h). Source: AG10 001, Table 14.2.1.2.6.7.

ラット及びイヌにおける[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の主な排泄経路は糞中であった。無処置の雄性及び雌性ラットの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 79.0%及び 71.7%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 16.3%及び 24.8%であった。雄性及び雌性イヌの平均糞中排泄率はそれぞれ投与量の 51.0%及び 66.0%であり、平均尿中排泄率はそれぞれ投与量の 34.4%及び 27.8%であった。BDC 雄性ラットの排泄試験の結果から、[^{14}C]-アコラミジス由来放射能の排泄に胆汁排泄が大きくかかわっていることが示唆された。

アコラミジスは CYP によってほとんど代謝されなかった。また、アコラミジスはいずれの分子種に対しても有意に阻害せず、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する IC_{50} は 150 µM 超、CYP3A4/5 に対する IC_{50} は 1100 µM 超であった。NADPH 存在下で 30 分間プレインキュベーションした結果、アコラミジスは CYP2C8 及び CYP2C9 に対して不可逆的な代謝依存的阻害作用を示したが、IC_{50} 値はそれぞれ 76 µM 及び 100 µM と高かった。いくつかの例外を除いて、150 µM までの濃度のアコラミジスで処理した場合、mRNA の発現量によって評価した CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導は、ほとんど又は全く認められなかった。これらの結果から、アコラミジスは CYP を介した臨床上問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

アコラミジス-AG の in vitro での生成には主に UGT1A9 が関与し、UGT2B7 及び UGT1A1 も寄与していることが示された。アコラミジスは HLM 及び組換え UGT1A9 を用いた検討により UGT1A9 を直接的に阻害した（IC_{50} はそれぞれ 150 µM 及び 40 µM）。UGT1A1 及び UGT2B7 に対する阻害作用は弱かった（HLM での IC_{50} は 200 µM 超、組換え UGT での IC_{50} は 150 µM 超）。以上の結果から、アコラミジスは UGT を介した臨床上問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

アコラミジスは in vitro で OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K、

P-gp 及び BSEP の基質ではなく、OAT1 及び BCRP の基質である。しかし、OAT1 の K_m 値は 28.5 μM、V_{max} 値は 45.4 pmol/min/cm^2 であったが、BCRP では K_m 値は 100 μM 超であり V_{max} 値は算出できなかった。アコラミジスの尿中排泄率は低く、OAT1 を介した臨床上問題となる薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。また、BCRP に対する K_m 値は高く（親和性は低く）、BCRP を介した臨床上問題となる薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。

ヒト OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE2-K、BSEP、BCRP 及び P-gp を介した輸送に対してアコラミジスによる in vitro での阻害作用は認められなかった。一方、OAT1、OAT3 及び MATE1 を介した輸送を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 1.39 μM、1.26 μM 及び 178 μM であった。算出された $I_{max,u}/IC_{50}$ 値から、ATTR-CM 患者で最も一般的な併用薬であるループ利尿薬（フロセミドなど）のような OAT1/OAT3 基質との薬物相互作用の可能性が考えられたため、臨床薬物相互作用試験によって評価した（モジュール 2.7.2 参照）。

他の薬剤によってアコラミジスが臨床薬物相互作用を受ける可能性は低いため、アコラミジス-AG の曝露量も増加しないと考えられる。代謝物の臨床曝露量は、非臨床動物種での安全域が 12 以上であることから担保されている。さらに、リン酸緩衝液中でのアコラミジス-AG の安定性は、その反応性の代替指標として評価され、長い半減期（161 分）からアコラミジス-AG は共有結合する可能性は低いと考えられる。さらに、ウエスタンブロット TTR 安定化アッセイにより、アコラミジス-AG の活性はアコラミジスの 24%～34%であることが示されている。ヒト ADME 試験（AG10-007 試験）の結果から、濃度時間曲線下面積（AUC）の比較で循環血中総放射能の約 7.64%が血漿中アコラミジス-AG であることが示されている。これらの結果から、アコラミジス-AG に起因する臨床薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

結論として、以上の in vitro 及び in vivo の非臨床 PK、TK、薬物代謝及び薬物相互作用試験の結果から、アコラミジスの非臨床薬物代謝及び PK プロファイルは十分に特徴付けられていると考えられる。

10 参考文献

Akira K, Uchijima T, Hashimoto T. Rapid internal acyl migration and protein binding of synthetic probenecid glucuronides. Chem Res Toxicol. 2002;15(6):765-772.

Barbier O, Villeneuve L, Bocher V, Fontaine C, Torra IP, Duhem C, et al. The UDP-glucuronosyltransferase 1A9 enzyme is a peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma target gene. J Biol Chem. 2003;278(16):13975-83.

EMA. Guideline on Bioanalytical Method Validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev.1 Corr.2, 2011.

EMA. Guideline on the investigation of drug interactions. CHMP/EWP/560/95/Rev.1 Corr.2, 2012.

FDA. Bioanalytical Method Validation, Guidance for Industry (FDA-2013-D-1020). 2018.

FDA. In vitro Drug Interaction Studies – Cytochrome P450 Enzyme and Transporter Mediated Drug Interactions, Guidance for Industry (FDA-2017-D-5961). 2020.

Hu DG, Rogers A, Mackenzie PI. Epirubicin upregulates UDP glucuronosyltransferase 2B7 expression in liver cancer cells via the p53 pathway. Mol Pharmacol. 2014;85(6):887-97.

Margaillan G, Rouleau M, Klein K, Fallon JK, Caron P, Villeneuve L, et al. Multiplexed Targeted Quantitative Proteomics Predicts Hepatic Glucuronidation Potential. Drug Metab Dispos. 2015;43(9):1331-5.

Miller M, Pal A, Albusairi W, Joo H, Pappas B, Haque Tuhin MT, et al. Enthalpy-Driven Stabilization of Transthyretin by AG10 Mimics a Naturally Occurring Genetic Variant That Protects from Transthyretin Amyloidosis. J Med Chem. 2018;61(17):7862-7876.

Penchala SC, Connelly S, Wang Y, Park MS, Zhao L, Baranczak A, et al. AG10 inhibits amyloidogenesis and cellular toxicity of the familial amyloid cardiomyopathy-associated V122I transthyretin. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(24):9992-9997.

TABLE OF CONTENTS

2.6.5 薬物動態試験概要表 5
1 薬物動態試験の概観 5
2 分析方法及びバリデーション試験 10
3 薬物動態試験：単回投与 14
4 薬物動態試験：反復投与 20
5 薬物動態試験：分布 35
6 薬物動態試験：血漿タンパク結合 46
7 薬物動態試験：妊娠又は授乳中動物の薬物動態 47
8 薬物動態試験：その他の分布試験 49
9 薬物動態試験：In vivo 代謝 50
10 薬物動態試験：In vitro 代謝 54
11 薬物動態試験：推定代謝経路 57
12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害及び誘導 59
13 薬物動態試験：排泄 66
14 薬物動態試験：胆汁中排泄 70
15 薬物動態試験：薬物相互作用 72
16 薬物動態試験：その他 93

LIST OF TABLES

Table 1: 薬物動態試験の一覧表 5
Table 2: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in Sprague Dawley Rat Plasma 10
Table 3: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in Beagle Dog Plasma 11
Table 4: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in New Zealand White Rabbit Plasma 12
Table 5: Bioanalytical Method Qualification for Determination of Acoramidis and Acoramidis-AG in C57BL/6 Mouse Plasma 13
Table 6: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type Mice 14
Table 7: Single Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Rats Following Oral Gavage, Intra-duodenal, Intra-ileal and Intra-colonic Administration 15
Table 8: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Rabbits 16
Table 9: Single IV and Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Mice and Rats 17
Table 10: Single IV and Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Dogs and Monkeys 18
Table 11: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with [^{14}C]-Acoramidis in Rats and Dogs 19
Table 12: A 4 Week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type) 20
Table 13: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats 21
Table 14: A 4-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats 22
Table 15: A 13-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats 23
Table 16: A 176-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats 24
Table 17: A 26-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats 25
Table 18: A 3-day Repeat Dose Pharmacokinetic Study of AG10 in Dogs 26
Table 19: A 7-day Repeat Dose Pharmacokinetic Study of Acoramidis in Dogs 27
Table 20: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs 28
Table 21: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs 30
Table 22: A 4-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs 31
Table 23: A 13-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs 32
Table 24: A 39-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs 33
Table 25: Brain Distribution of Acoramidis Following Oral Administration to Rats 35
Table 26: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Albino Rats: Tissue Concentrations 36
Table 27: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Albino Rats: Estimated Pharmacokinetic Parameters 39
Table 28: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Pigmented Rats: Tissue Concentrations 41
Table 29: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-

Acoramidis to Male Pigmented Rats: Estimated Pharmacokinetic Parameters 44
Table 30: Plasma Protein Binding of Acoramidis Using Equilibrium Dialysis 46
Table 31: Oral Toxicokinetics in Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Female Rats 47
Table 32: Oral Toxicokinetics in Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Female Rabbits 48
Table 33: In Vitro Blood: Plasma Ratio and Erythrocyte Partitioning of Acoramidis 49
Table 34: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Male Rats 50
Table 35: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Female Rats 51
Table 36: Metabolite Profiling in Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Bile-Duct Cannulated Rats 52
Table 37: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Dogs 53
Table 38: Metabolic Stability of Acoramidis in Rat, Dog, Monkey, and Human Hepatocytes 54
Table 39: Metabolite Profiling in Rat, Dog, Monkey, and Human Hepatocytes with Acoramidis 55
Table 40: Metabolite Profiling in Mouse and Human Hepatocytes with Acoramidis 56
Table 41: Characteristics of Metabolites of Acoramidis Detected in Samples from Animal and In Vitro Studies 57
Table 42: Evaluation of CYP Induction by Acoramidis in Human Hepatocytes: mRNA Levels 59
Table 43: Evaluation of Direct CYP Inhibition by Acoramidis 61
Table 44: Evaluation of Direct, Time-Dependent, and Metabolism-Dependent CYP Inhibition by Acoramidis 62
Table 45: Evaluation of Metabolism-Dependent CYP Inhibition by Acoramidis 63
Table 46: Evaluation of Direct UGT Inhibition in Microsomes by Acoramidis 64
Table 47: Evaluation of Direct Recombinant UGT Inhibition by Acoramidis 65
Table 48: Mass Balance Study in Rats After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis 66
Table 49: Mass Balance Study in Dogs After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis 68
Table 50: Mass Balance Study in Bile-Duct Cannulated Rats After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis 70
Table 51: Effect of Omeprazole and Pentagastrin on the Pharmacokinetics of Acoramidis in Dogs 72
Table 52: Biotransformation of Acoramidis with Recombinant Human UGT Enzymes 73
Table 53: Formation of Acoramidis Acylglucuronide by Recombinant Human UGT Enzymes 74
Table 54: Permeability and Transport of Acoramidis in Caco-2 Cells 75
Table 55: Inhibitory Potential of Acoramidis on the Activity of P-glycoprotein in Caco-2 Cells 76
Table 56: OAT1 and OAT3 Substrate Assays with Acoramidis 77
Table 57: OCT1 and OCT2 Substrate Assays with Acoramidis 78
Table 58: OATP1B1 and OATP1B3 Substrate Assays with Acoramidis 79
Table 59: MATE1 and MATE2-K Substrate Assays with Acoramidis 80
Table 60: BCRP Substrate Assays with Acoramidis 81

Table 61: P-gp Substrate Assays with Acoramidis 82
Table 62: BSEP Assays with Acoramidis 83
Table 63: OAT1 Substrate Assay with Acoramidis for Determination of K_m and V_{max} 84
Table 64: BCRP Substrate Assay with Acoramidis for Determination of K_m and V_{max} 85
Table 65: Uptake (SLC) Transporter Inhibition Assays with Acoramidis 86
Table 66: BCRP and P-gp Inhibition Assays with Acoramidis using MDCK-II Cells 87
Table 67: BCRP, P-gp, and BSEP Inhibition Assays with Acoramidis using Membrane Vesicles 88
Table 68: OAT1, OAT3, and MATE1 Inhibition Assays with Acoramidis for Determination of IC_{50} 89
Table 69: OAT3 Inhibition Assays with Acoramidis and Probenecid Using Furosemide as a Substrate 90
Table 70: Uptake (SLC) Transporter Inhibition Assays with Acoramidis-AG 91
Table 71: OAT3 Inhibition Assays with Acoramidis-AG for Determination of IC_{50} 92
Table 72: Assessment of Pharmacokinetics Following Tablet or Capsule Administration of Acoramidis to Dogs 93
Table 73: Assessment of Pharmacokinetics Following Tablet or Capsule Administration of Acoramidis to Dogs 94
Table 74: Assessment of Pharmacokinetics Following Administration of Different Tablet Formulations of Acoramidis to Dogs 95
Table 75: Assessment of Pharmacokinetics Following Administration of Different Extended Release Formulations of Acoramidis to Dogs 96

2.6.5 薬物動態試験概要表

1 薬物動態試験の概観

Table 1: 薬物動態試験の一覧表

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Absorption						
Determination of the Pharmacokinetics of AG10 after an Oral Dose to CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type Mice	No	Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type	PO	[redacted]	8409786	4.2.2.2
Pharmacokinetics of AG10 Following a Single Intravenous and Oral Gavage Administration to Male CD-1 Mice	No	Mice, CD-1	IV, PO	[redacted]	409272-20[redacted]0930-MPK	4.2.2.2
AG10: Precarcinogenicity 4-week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type)	No	Mice, CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type	PO	[redacted]	8409781	4.2.3.4.2
Pharmacokinetics of AG10 Following a Single Intravenous and Oral Gavage Administration to Male Sprague Dawley Rats	No	Rats, Sprague Dawley	IV, PO	[redacted]	409272-20[redacted]0930-RPK	4.2.2.2
Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355837	4.2.2.5
Site of Absorption of AG10 Following a Single Oral Gavage, Intra-duodenal, Intra-ileal, and Intra-colonic Administration to Male Sprague Dawley Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO, I-D, I-I, I-C	[redacted]	243-20[redacted] 251-20[redacted]	4.2.2.2
A 7-day Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355817	4.2.3.2
Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with AG10 in Rats	Yes	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8411734	4.2.3.5.2
A 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355824	4.2.3.2
A 13-week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8366846	4.2.3.2
AG10: 104-week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats	Yes	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8409782	4.2.3.4.1

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
A 26-week Study of AG10 by Oral Gavage in Rats with a 28-day Recovery	Yes	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	20[redacted]1689	4.2.3.2
Determination of the Pharmacokinetics of AG10 After an Oral Dose to Rabbits	No	Rabbits, New Zealand White	PO	[redacted]	8410266	4.2.2.2
Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetic Study with AG10 in Rabbits	Yes	Rabbits, New Zealand White	PO	[redacted]	8411735	4.2.3.5.2
Pharmacokinetics of AG10 Following a Single Intravenous and Oral Gavage Administration to Male Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	IV, PO	[redacted]	409272-20[redacted]041901-DPK	4.2.2.2
Absorption, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8355830	4.2.2.5
Determination of the Pharmacokinetics of AG10 after 3-day Oral Gavage Dose in Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8350157	4.2.2.2
Pharmacokinetics of AG10 Following Oral Gavage Administration to Male Beagle Dogs for 7 Days	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	409272-20[redacted]053101-DPK	4.2.2.2
A 7-day Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 7-day Recovery	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8350153	4.2.3.2
A 7-day Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8355818	4.2.3.2
A 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with 2-week Recovery Phase	Yes	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8355825	4.2.3.2
A 13-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8366847	4.2.3.2
A 39-week Study of AG10 by Oral Gavage in Dogs with a 28-day Recovery Period	Yes	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	20[redacted]1692	4.2.3.2
Determination of the Pharmacokinetics of AG10 After a Single Intravenous or Oral Dose to Male Cynomolgus Monkeys	No	Monkeys, Cynomolgus	IV, PO	[redacted]	8367761	4.2.2.2
Distribution						
Plasma Protein Binding of AG10 in Sprague Dawley Rat, Beagle Dog, Cynomolgus Monkey, and Human Plasma	No	Plasma	In vitro	[redacted]	DATED-[redacted]20[redacted]	4.2.2.3

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Determination of In Vitro Blood to Plasma Ratio (B:P) of AG10 in Sprague Dawley Rat, Beagle Dog, Cynomolgus Monkey and Human	No	Blood/Plasma	In vitro	[redacted]	EIDOS-20[redacted]0921-BPR	4.2.2.3
Brain Distribution of AG10 Following Oral Gavage Administration to Male Sprague Dawley Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	409272-20[redacted]0919-RPK	4.2.2.3
Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355837	4.2.2.5
Metabolism						
Stability in Simulated Gastric Fluid	No	Simulated gastric fluid	In vitro	[redacted]	Penchala et al., 2013	4.3
In Vitro Metabolic Stability of AG10 with Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	Penchala et al., 2013	4.3
Metabolic Stability of AG10 in Sprague Dawley Rat, Beagle Dog, Cynomolgus Monkey, and Human Cryopreserved Hepatocytes	No	Hepatocytes	In vitro	[redacted]	EIDOS-20[redacted]0921-HMS	4.2.2.4
In Vitro Metabolite Identification of AG10 from Rat, Dog, Monkey and Human Hepatocyte in Suspension	No	Hepatocytes	In vitro	[redacted]	[redacted]906	4.2.2.4
Met ID study in C57BL/6 mouse hepatocytes and human hepatocytes	No	Hepatocytes	In vitro	[redacted]	QA-5239 Eidos 021120[redacted]	4.2.2.4
Stability of AG10 Acyl glucuronide	No	100 mM Phosphate buffer, pH 7.4	In vitro	[redacted]	[redacted]4018	4.2.2.4
Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355837	4.2.2.5
Absorption, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8355830	4.2.2.5
Excretion						
Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Rats	No	Rats, Sprague Dawley	PO	[redacted]	8355837	4.2.2.5
Absorption, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]AG10 Following Oral Administration to Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	8355830	4.2.2.5

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Pharmacokinetic Drug Interactions						
Effect of Omeprazole and Pentagastrin on Pharmacokinetics of AG10 Following Oral Administration to Male Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	20[redacted]9305	4.2.2.6
In Vitro Assessment of Cytochrome P450 Inhibition by AG10 in Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	DATED-[redacted]20[redacted]	4.2.2.6
CYP2B6 Inhibition of AG10 in Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	20[redacted]1213-E005-01	4.2.2.6
Cytochrome P450 Inhibition by AG10 in Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	[redacted]5062	4.2.2.6
Potential of AG10 for Cytochrome P450 Induction Assessed in Cultured Human Hepatocytes	No	Hepatocytes	In vitro	[redacted]	[redacted]3075	4.2.2.6
In Vitro UDP-Glucuronosyltransferase Reaction Phenotyping of AG10 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human UGT Enzymes	No	Human liver microsomes, recombinant enzymes	In vitro	[redacted]	[redacted]4016	4.2.2.6
In Vitro Evaluation of AG10 as an Inhibitor of UDP-Glucuronosyl-transferase Enzymes in Human Liver Microsomes	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	[redacted]5022	4.2.2.6
Potential Inhibition of Recombinant UDP Glucuronosyltransferase by AG10	No	Recombinant enzymes	In vitro	[redacted]	[redacted]5073	4.2.2.6
Determination of the Inhibitory Potential of AG10 on the Activity of P-glycoprotein in Caco-2 Cells	No	Caco-2 cells	In vitro	[redacted]	EIDOS-20[redacted]0921-CAPGPI	4.2.2.6
Caco-2 Permeability of AG10	No	Caco-2 cells	In vitro	[redacted]	20[redacted]0810-E005-01	4.2.2.6
Assessment of AG10 as a Substrate of Human OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, OATP1B1, OATP1B3, MATE1, MATE2-K, BCRP, P-gP, and BSEP Mediated Transport	No	MDCK-II cells, MDCK-MDR1 cells, Sf9 membrane vesicles	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-163	4.2.2.6
Kinetic Determination of AG10 (K_m and V_{max}) Transport Mediated by Human OAT1 Transporter	No	MDCK-II cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-243	4.2.2.6
Kinetic Determination (K_m and V_{max}) of AG10 Transport Mediated by Human BCRP Transporter In Vitro	No	MDCK cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-242	4.2.2.6
Assessment of AG10 as an Inhibitor of Human OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, OATP1B1, OATP1B3, MATE1, MATE2-K, BCRP, P-gP, and BSEP Mediated Transport	No	MDCK-II cells, MDCK-MDR1 cells, Sf9 membrane vesicles	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-162	4.2.2.6
Assessment of AG10 as an Inhibitor of Human OAT1, OAT3, and MATE-1 Mediated Transport	No	MDCK-II cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-068	4.2.2.6

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Assessment of AG10 and Probenecid as Inhibitors of Human OAT3 Mediated Transport	No	MDCK-II cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-115	4.2.2.6
Assessment of AG10 Acylglucuronide as an Inhibitor of Human OAT1, OAT3, OCT2, MATE-1, and MATE2-K Mediated Transport	No	MDCK-II cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-069	4.2.2.6
Determination of IC_{50} of AG10 Acylglucuronide Against Human OAT3 Mediated Transport In Vitro	No	MDCK-II cells	In vitro	[redacted]	[redacted]-20[redacted]-142	4.2.2.6
Other Pharmacokinetic Studies						
Pharmacokinetic Study of AG10 Following Oral Administration in Non-Naïve Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	EID-[redacted]01	4.2.2.7
Assessment of Pharmacokinetics Following Oral (Tablet or Capsule) Dose Administration of AG10 to Male Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	ZT-0001-DA-DE	4.2.2.7
Non-GLP Pharmacokinetic Study of AG10 Following Single Oral Dose in Non-Naïve Male Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	EID-[redacted]01	4.2.2.7
Non-GLP Pharmacokinetic Study of AG10 Following Single Oral Dose of Various Extended Release Formulations in Non-Naïve Male Beagle Dogs	No	Dogs, Beagle	PO	[redacted]	EID-[redacted]02	4.2.2.7

2　分析方法及びバリデーション試験

Table 2: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in Sprague Dawley Rat Plasma

Item	Acoramidis	Acoramidis-AG
Reference	[redacted] DCN 4005364	[redacted] DCN 4006588
Assay range	0.200 to 200 µg/mL	0.200 to 200 µg/mL
Aliquot	50.0 µL	20.0 µL
LLOQ	0.200 µg/mL	0.200 µg/mL
Linearity (r2)	≥ 0.9911	≥ 0.9928
Intra-day LLOQ accuracy (vs. theoretical)	-7.5% to -4.0%	-5.0% to 4.0%
Intra-day LLOQ precision (%CV)	3.5% to 4.3%	2.3% to 11.5%
Inter-day LLOQ accuracy (vs. theoretical)	-6.0%	-1.5%
Inter-day LLOQ precision (%CV)	4.1%	8.2%
Intra-day accuracy (vs. theoretical)	-11.3% to 5.0%	-4.5% to 2.0%
Intra-day precision (% CV)	0.4% to 3.2%	1.2% to 8.2%
Inter-day accuracy (vs. theoretical)	-6.9% to 4.0%	-1.7% to -1.2%
Inter-day precision (% CV)	1.5% to 4.5%	4.7% to 5.9%
Recovery	Mean 90.27% to 103.56% for acoramidis; Mean 96.52% to 104.46% for acoramidis-D_6 (IS)	Mean 86.20% to 91.51% for acoramidis-AG; Mean 91.60% to 97.02% for acoramidis-AG-D_6 (IS)
Detection Specificity	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma
Selectivity	-1.0% to 11.5% in 6 differentlots of blank plasma	-11.0% to 6.5% in 6 differentlots of blank plasma
Matrix factor	From 1.24 to 2.15 for acoramidis; From 1.46 to 2.27 for acoramidis-D_6 (IS) – in 6 different lots of plasma	From 0.990 to 1.02 for acoramidis-AG; From 0.983 to 1.02 for acoramidis-AG-D6 (IS) – in 6 different lots of plasma
Hemolysis	From 1.17 to 2.06 of acoramidis; From 1.36 to 2.19 for acoramidis -D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma	From 1.02 to 1.04 of acoramidis -AG; From 1.02 to 1.04 for acoramidis -AG-D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma
Carryover	Method met criteria for carryover	Method met criteria for carryover
Dilution integrity	Mean %Dev -0.2% and %CV 1.0% for samples diluted 10X	Mean %Dev -3.4% and %CV 1.1% for samples diluted 10X
Stock and Working Solution stability	Stock solution 35 days at -20°C and 24 hr at room temperature; working solution 47 days refrigerated and 24 hr at room temperature	45-69 days refrigerated and 24-25 hr at room temperature
Extract stability	89 hr at 4°C	168 hr at 4°C
Whole blood stability	Confirmed for up to 2 hr on ice	Confirmed for up to 2 hr on ice
Freeze/thaw	Confirmed for 5 F/T cycles in matrix (-70°C to on ice)	Confirmed for 5 F/T cycles in matrix (-70°C to room temperature)
Benchtop stability	24 hr at 1°C	24 hr at 22°C
Long term stability	Confirmed for 104 days at -20°C and -70°C	Confirmed for 104 days at -20°C and 161 days at -70°C
Incurred Sample Reproducibility	28 samples from Study 8355824 reanalyzed; 100% acceptable	22 samples from Study 20[redacted]1689 reanalyzed; 100% acceptable

Table 3: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in Beagle Dog Plasma

Item	Acoramidis	Acoramidis-AG
Reference	[redacted] DCN 4005365	[redacted] DCN 4006589
Assay range	0.200 to 200 µg/mL	0.100 to 100 µg/mL
Aliquot	50.0 µL	20.0 µL
LLOQ	0.200 µg/mL	0.100 µg/mL
Linearity (r2)	≥ 0.9952	≥ 0.9984
Intra-day LLOQ accuracy (vs.theoretical)	-13.5% to -4.0%	0.0% to 5.0%
Intra-day LLOQ precision (%CV)	3.6% to 11.4%	3.2% to 4.6%
Inter-day LLOQ accuracy (vs.theoretical)	-9.0%	3.0%
Inter-day LLOQ precision (%CV)	9.3%	4.1%
Intra-day accuracy (vs. theoretical)	-11.3% to -4.7%	-4.2% to 3.8%
Intra-day precision (% CV)	0.5% to 8.0%	0.5% to 2.4%
Inter-day accuracy (vs. theoretical)	-9.4% to -5.5%	-1.8% to 1.8%
Inter-day precision (% CV)	3.0% to 6.1%	2.3% to 2.8%
Recovery	Mean 100.64% to 101.30% for acoramidis; Mean 99.20% to 102.96% for acoramidis-D_6 (IS)	Mean 88.57% to 96.18% for acoramidis -AG; Mean 84.16% to 87.70% for acoramidis -AG-D_6 (IS)
Detection Specificity	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma
Selectivity	From -13.0% to 14.0% in 6 different lots of blank plasma	From -2.3% to 6.0% in 6 different lots of blank plasma
Matrix factor	From 0.995 to 1.00 for acoramidis; From 0.974 to 1.01 for acoramidis -D_6 (IS) – in 6different lots of plasma	From 0.978 to 1.02 for acoramidis -AG; From 1.01 to 1.02 for acoramidis -AG-D_6 (IS) – in 6 different lots of plasma
Hemolysis	From 0.992 to 1.03 for acoramidis; From 0.986 to 0.994 for acoramidis -D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma	From 0.982 to 1.03 for acoramidis -AG; 1.03 for acoramidis -AG-D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma
Carryover	Method met criteria for carryover	Method met criteria for carryover
Dilution integrity	Mean % Dev -7.4% and %CV 0.8% for samples diluted 10X	Mean % Dev 4.8% and %CV 1.7% for samples diluted 10X
Stock and Working Solution stability	Stock solution 35 days at -20°C and 24 hr at room temperature; working solution 47 days refrigerated and 24 hr at room temperature	57-69 days refrigerated and 24-25 hr at room temperature
Extract stability	97 hr at 4°C	81 hr at 4°C
Whole blood stability	Confirmed for up to 2 hr at room temperature and on ice	Confirmed for up to 2 hr on ice
Freeze/thaw	Confirmed for 5 F/T cycles inmatrix (-70°C to on ice)	Confirmed for 5 F/T cycles inmatrix (-70°C to room temperature)
Benchtop stability	24 hr at 1°C	24 hr at 22°C
Long term stability	Confirmed for 92 days at -20°C and -70°C	Confirmed for 122 days at -20°C and -70°C
Incurred Sample Reproducibility	35 samples from Study 8355825 reanalyzed; 94.29% acceptable	41 samples from Study 20[redacted]1692 reanalyzed; 85.4% acceptable

Table 4: Bioanalytical Method Validation for Determination of Acoramidis and Qualification for Determination of Acoramidis-AG in New Zealand White Rabbit Plasma

Item	Acoramidis	Acoramidis-AG
Reference	[redacted] DCN 4007882	[redacted] DCN 4007963
Assay range	0.240 to 240 µg/mL	0.100 to 100 µg/mL
Aliquot	50.0 µL	50.0 µL
LLOQ	0.240 µg/mL	0.100 µg/mL
Linearity (r2)	≥ 0.9928	≥ 0.9963
Intra-day LLOQ accuracy (vs.theoretical)	-2.9% to 2.1%	1.0% to 3.0%
Intra-day LLOQ precision (%CV)	1.9% to 4.0%	2.9% to 7.8%
Inter-day LLOQ accuracy (vs.theoretical)	0.4%	3.0%
Inter-day LLOQ precision (%CV)	4.0%	5.2%
Intra-day accuracy (vs. theoretical)	-4.7% to 12.9%	-11.6% to 8.0%
Intra-day precision (% CV)	0.8% to 4.1%	1.6% to 3.1%
Inter-day accuracy (vs. theoretical)	-3.6% to 10.2%	-5.4% to 4.8%
Inter-day precision (% CV)	1.6% to 4.0%	2.7% to 5.3%
Recovery	Mean 103.36% to 105.55% for acoramidis; Mean 104.45% to 107.35% for acoramidis-D_6 (IS)	Mean 83.44% to 85.77% for acoramidis-AG; Mean 96.10% to 97.34% for acoramidis-AG-D_6 (IS)
Detection Specificity	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma	Confirmed in 6 different lots ofblank plasma
Selectivity	-20.8% to -4.2% in 6 differentlots of blank plasma	-7.3% to 8.0% in 6 differentlots of blank plasma
Matrix factor	From 0.966 to 1.06 for acoramidis; From 0.937 to 1.07 for acoramidis-D_6 (IS) – in 6 different lots of plasma	From 1.18 to 1.32 for acoramidis-AG; From 1.26 to 1.29 for acoramidis-AG-D_6 (IS) – in 6different lots of plasma
Hemolysis	From 1.01 to 1.03 of acoramidis; From 1.00 to 1.04 for acoramidis-D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma	From 1.17 to 1.24 of acoramidis-AG; From 1.21 to 1.27 for acoramidis-AG-D_6 (IS) – in 1 hemolytic lot of plasma
Carryover	Method met criteria for carryover	Method met criteria for carryover
Dilution integrity	Mean %Dev 2.6% and %CV 0.9% for samples diluted 10X	Mean %Dev -1.4% and %CV 1.2% for samples diluted 10X
Stock and Working Solution stability	Stock solution 172 days at -20°C and 24 hr at room temperature; working solution 47 days refrigerated and 24 hr at room temperature	57-69 days refrigerated and 24-25 hr at room temperature
Extract stability	174 hr at 4°C	102 hr at 4°C
Whole blood stability	Confirmed for up to 2 hr at room temperature and on ice	Confirmed for up to 2 hr on ice

Table 5: Bioanalytical Method Qualification for Determination of Acoramidis and Acoramidis-AG in C57BL/6 Mouse Plasma

Item	Acoramidis	Acoramidis-AG
Reference	[redacted] DCN 4008002	[redacted] DCN 4008002
Assay range	0.240 to 240 µg/mL	0.100 to 100 µg/mL
Aliquot	20.0 µL	20.0 µL
LLOQ	0.240 µg/mL	0.100 µg/mL
Linearity (r2)	≥ 0.9987	≥ 0.9989
Intra-day accuracy (vs. theoretical)	-4.3% to 3.1%	-3.7% to -2.6%
Intra-day precision (% CV)	2.0% to 5.9%	2.9% to 5.3%
Carryover	Method met criteria for carryover	Method met criteria for carryover
Dilution integrity	Mean %Dev 2.7% and %CV3.4% for samples diluted 10X	Mean %Dev -3.5% and %CV4.5% for samples diluted 10X
Stock and Working Solution stability	Stock solution 172 days at -20°C and 24 hr at room temperature; working solution 47 days refrigerated and 24 hr at room temperature	69 days refrigerated and 25 hr atroom temperature

3 薬物動態試験：単回投与

Table 6: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type Mice

Test article: Acoramidis

Study	8409786	8409786	8409786	8409786	8409786	8409786	8409786	8409786
Species	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Wild Type Mice, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic
Gender (M/F)/No. of Animals	M/12	M/12	M/12	M/12	M/12	M/12	M/12	M/12
Feeding Condition	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water	0.5% Methyl-cellulose 400 cps in RO water
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	25	25	50	50	100	100	200	200
Sample	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma
Analyte	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters								
C_{max} (µg/mL)	4.90	0.186	16.5	1.96	78.7	14.4	254	45.7
T_{max} (hr)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
AUC_{last}[a] (µg*hr/mL)	40.2	0.047	57.7	0.992	114	9.25	311	42.5

Note: Samples were analyzed for acoramidis and acoramidis-AG using a LC-MS/MS method which was later qualified.

[a] $AUC_{last} = AUC_{0-24}$.

Table 7: Single Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Rats Following Oral Gavage, Intra-duodenal, Intra-ileal and Intra-colonic Administration

Test article: Acoramidis

Study	243-20[redacted]-251-20[redacted]			
Species	Rat, Sprague Dawley			
Feeding Condition	Fed			
Sample	K2-EDTA plasma			
Assay	LC-MS/MS			
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in water			
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3	M/3	M/3	M/3
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
Dose (mg/kg)	5	5	5	5
Method of Administration	Oral (gavage)	Intra-duodenal	Intra-ileal	Intra-colonic
PK Parameters[a]				
C_{max} (ng/mL)	2083 ± 358	2300 ± 340	2007 ± 345	2863 ± 270
T_{max} (hr)	0.750 ± 0.433	0.333 ± 0.144	5.33 ± 2.31	0.917 ± 0.946
AUC_{last}[b] (ng*hr/mL)	22506 ± 3539	23749 ± 2212	31132 ± 1813	35209 ± 5361

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean value ± standard deviation.

[b] $AUC_{last} = AUC_{0-24}$.

Table 8: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Rabbits

Test article: Acoramidis

Study	8410266	8410266	8410266
Species	Rabbit, New Zealand White	Rabbit, New Zealand White	Rabbit, New Zealand White
Gender (M/F)/No. of Animals	F/3	F/3	F/3
Feeding Condition	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in RO water	0.5% Methylcellulose 400 cps in RO water	0.5% Methylcellulose 400 cps in RO water
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	25	75	150
Sample	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters[a]			
C_{max} (µg/mL)	18.5 ± 6.63	56.3 ± 2.91	94.3 ± 29.6
T_{max} (hr)	0.583 ± 0.382	1.00 ± 0	1.00 ± 0
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	106 ± 19.1	233 ± 5.79	367 ± 78.9

Abbreviation: RO = reverse osmosis

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean value ± standard deviation.

Table 9: Single IV and Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Mice and Rats

Test article: Acoramidis

Study	409272-20[redacted]0930-MPK	409272-20[redacted]0930-MPK	409272-20[redacted]0930-RPK	409272-20[redacted]0930-RPK
Species	Mouse, CD-1	Mouse, CD-1	Rat, Sprague Dawley	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	60% PEG 400 in saline	0.5% Methocel 400 cps in water	60% PEG400 in saline	0.5% Methocel 400 cps in water
Method of Administration	IV	Oral (gavage)	IV	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1	5	1	5
Sample	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters[a]				
C_{max} (µg/mL)	2.17 ± 0.225	2.78 ± 0.0954	3.76 ± 0.372	4.31 ± 0.312
T_{max} (hr)	0.500 ± 0	0.833 ± 0.289	0.083 ± 0	2.67 ± 1.15
$t_{1/2}$ (hr)	5.32 ± 0.617	5.82 ± 1.08	12.9 ± 3.40	12.5 ± 0.538
CL (L/hr/kg)	0.0613 ± 0.0148	NA	0.0270 ± 0.00558	NA
V_{ss} (L/kg)	0.392 ± 0.107	NA	0.488 ± 0.0614	NA
AUC_{inf} (µg*hr/mL)	17.0 ± 4.31	25.9 ± 1.30	38.2 ± 8.74	114 ± 36.5
%F	NA	30.5	NA	59.7

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data (except %F) are mean value ± standard deviation.

Table 10: Single IV and Oral Dose Pharmacokinetic Study with Acoramidis in Dogs and Monkeys

Test article: Acoramidis

Study	409272-20[redacted]041901-DPK	409272-20[redacted]041901-DPK	8367761	8367761	8367761	8367761
Species	Dog, Beagle	Dog, Beagle	Monkey, Cynomolgus	Monkey, Cynomolgus	Monkey, Cynomolgus	Monkey, Cynomolgus
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3	M/3	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	60% PEG400 in water	60% PEG400 in water	60% PEG400 in sterile water for injection	60% PEG400 in sterile water for injection	0.5% Methocel 400 cps in RO water	0.5% Methocel 400 cps in RO water
Method of Administration	IV	Oral (gavage)	IV	IV	Oral (gavage)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1	5	1	1	5	5
Sample	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma	Acidified K_2-EDTA plasma
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide	Acoramidis	Acoramidis acylglucuronide
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters[a]						
C_{max} (µg/mL)	4.47 ± 0.405	4.10 ± 1.59	6.45 ± 1.95	1.35 ± 0.332	3.60 ± 1.51	1.16 ± 0.143
T_{max} (hr)	0.083 ± 0	0.583 ± 0.382	0.083 ± 0	0.083 ± 0	0.833 ± 0.289	1.00 ± 0
$t_{1/2}$ (hr)	19.4 ± 7.64	20.0 ± 8.60	10.1 ± 2.15	10.1 ± 6.00	13.2 ± 1.19	4.87 ± 0.432
CL (L/hr/kg)	0.0219 ± 0.00234	NA	0.0423 ± 0.0136	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	0.612 ± 0.141	NA	0.525 ± 0.0979	NA	NA	NA
AUC_{inf} (µg*hr/mL)	46.1 ± 4.70	91.1 ± 34.6	25.7 ± 9.72	1.53	63.5 ± 11.8	8.86 ± 0.533
%F	NA	39.5	NA	NA	49.4	NA

Abbreviation: RO = reverse osmosis

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data (except %F) are mean value ± standard deviation.

Table 11: Single Oral Dose Pharmacokinetic Study with [^{14}C]-Acoramidis in Rats and Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8355837	8355837	8355830	8355830
Species	Rat, Sprague Dawley	Rat, Sprague Dawley	Dog, Beagle	Dog, Beagle
Gender (M/F)/No. of Animals	M/15	F/15	M/3	F/3
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in RO water	0.5% Methylcellulose in RO water	0.5% Methylcellulose in RO water	0.5% Methylcellulose in RO water
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000	1000	250	250
Specific Radioactivity (μCi/mg)	0.191	0.191	0.297	0.297
Sample	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma	K_2-EDTA plasma
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
Assay	Total radioactivity	Total radioactivity	Total radioactivity	Total radioactivity
PK Parameters[a]				
C_{max} (ng eq/g)	402000	565000	151000	282000 ± 50500
T_{max} (hr)	1.00	4.00	7.00	6.67 ± 1.15
$t_{1/2}$ (hr)	9.53	26.7	61.1	62.4 ± 22.2
AUC_{inf} (ng eq*hr/g)	4610000	8790000	1700000	3510000 ± 814000

Abbreviations: eq = equivalents [^{14}C]-acoramidis, RO = reverse osmosis

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean value. Mean value ± standard deviation is reported for female dogs.

4 薬物動態試験：反復投与

Table 12: A 4 Week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type)

Test article: Acoramidis

Study	8409781											
Species	Mouse, CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type											
Feeding Condition	Fed											
Vehicle/ Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water											
Method of Administration	Oral (gavage)											
Sample	Acidified K2-EDTA plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Dose (mg/kg/day)	500				1000				1500			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/18		F/18		M/18		F/18		M/18		F/18	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters												
Day 1												
T_{max} (hr)	1.00	1.00	0.500	1.00	1.00	2.00	0.500	0.500	1.00	2.00	0.500	1.00
C_{max} (µg/mL)	510	123	514	92.7	437	153	533	105	666	341	793	175
C_{max}/D	1.02	0.245	1.03	0.185	0.437	0.153	0.533	0.105	0.444	0.227	0.529	0.117
AUC_{0-t} (µg*hr/mL)	1850	473	2100	353	3370	1090	4750	1120	1090	456	1200	262
AUC_{0-t}/Dose	3.70	0.946	4.21	0.706	3.37	1.09	4.75	1.12	0.725	0.304	0.801	0.175
Dose (mg/kg/day)	500				1000				1500			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/18		F/18		M/18		F/18		M/18		F/18	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
Day 28												
T_{max} (hr)	0.500	1.00	0.500	2.00	0.500	2.00	1.00	1.00	ND	ND	ND	ND
C_{max} (µg/mL)	378	134	271	142	558	545	403	288	ND	ND	ND	ND
C_{max}/D	0.755	0.268	0.541	0.284	0.558	0.545	0.403	0.288	ND	ND	ND	ND
AUC_{0-t} (µg*hr/mL)	969	463	1310	887	1730	3640	1970	1300	ND	ND	ND	ND
AUC_{0-t}/Dose	1.94	0.926	2.62	1.77	1.73	3.64	1.97	1.30	ND	ND	ND	ND
AR AUC_{0-t}	0.523	0.979	0.622	2.51	0.514	3.35	0.415	1.16	ND	ND	ND	ND

Abbreviations: ND = Not determinable; all animals directed for unscheduled euthanasia on Day 1

Note: Samples were analyzed for acoramidis and acoramidis-AG using a LC-MS/MS method.

Table 13: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats

Test article: Acoramidis

Study	8355817							
Species	Rat, Sprague Dawley							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water							
Method of Administration	Oral (gavage)							
Sample	K2-EDTA plasma							
Assay	LC-MS/MS							
Dose (mg/kg/day)	100		400		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/9	F/9	M/9	F/9	M/9	F/9	M/9	F/9
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 1								
T_{max} (hr)	0.250	0.250	1.00	0.500	0.500	1.00	0.500	1.00
C_{max} (µg/mL)	82.5	105	203	236	170	264	182	293
C_{max}/Dose	0.825	1.05	0.508	0.590	0.283	0.441	0.182	0.293
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	198	247	1200	2050	1780	2680	2750	4530
AUC_{0-24}/Dose	1.98	2.47	3.01	5.12	2.97	4.47	2.75	4.53
Dose (mg/kg/day)	100		400		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/9	F/9	M/9	F/9	M/9	F/9	M/9	F/9
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 7								
T_{max} (hr)	0.500	0.500	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	88.7	168	195	281	225	312	237	345
C_{max}/Dose	0.887	1.68	0.488	0.703	0.375	0.521	0.237	0.345
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	234	350	1310	1680	2050	2650	3220	4030
AUC_{0-24}/Dose	2.34	3.50	3.29	4.20	3.42	4.41	3.22	4.03
AR C_{max}	1.07	1.60	0.959	1.19	1.33	1.18	1.30	1.18
AR AUC_{0-24}	1.18	1.42	1.09	0.819	1.15	0.988	1.17	0.889

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean values.

Table 14: A 4-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats

Test article: Acoramidis

Study	8355824							
Species	Rat, Sprague Dawley							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water							
Method of Administration	Oral (gavage)							
Sample	K2-EDTA plasma							
Assay	LC-MS/MS							
Dose (mg/kg/day)	50		200		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 1								
T_{max} (hr)	0.500	0.500	1.00	1.00	1.00	1.00	0.500	1.00
C_{max} (µg/mL)	11.3	40.4	69.3	127	145	254	172	280
C_{max}/Dose	0.226	0.808	0.347	0.635	0.241	0.423	0.172	0.280
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	110	110	334	624	1260	2300	2440	3170
AUC_{0-24}/Dose	2.20	2.21	1.67	3.12	2.10	3.84	2.44	3.17
Dose (mg/kg/day)	50		200		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 26								
T_{max} (hr)	0.500	0.500	1.00	0.500	1.00	1.00	2.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	35.7	68.6	130	294	216	378	356	364
C_{max}/Dose	0.713	1.37	0.649	1.47	0.361	0.631	0.356	0.364
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	145	123	562	1060	1810	2810	5180	4460
AUC_{0-24}/Dose	2.90	2.46	2.81	5.31	3.02	4.68	5.18	4.46
AR C_{max}	3.16	1.70	1.87	2.31	1.50	1.49	2.07	1.30
AR AUC_{0-24}	1.32	1.11	1.68	1.70	1.44	1.22	2.12	1.41

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005364.

[a] Data are mean values.

Table 15: A 13-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats

Test article: Acoramidis

Study	8366846					
Species	Rat, Sprague Dawley					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	50		350		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 1						
T_{max} (hr)	0.500	0.500	0.500	1.00	1.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	10.4	17.2	126	194	162	249
C_{max}/Dose	0.207	0.345	0.361	0.554	0.162	0.249
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	101	95.5	968	1140	2250	3580
AUC_{0-24}/Dose	2.03	1.91	2.77	3.26	2.25	3.58
Dose (mg/kg/day)	50		350		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 91						
T_{max} (hr)	0.500	0.500	2.00	1.00	2.00	0.500
C_{max} (µg/mL)	107	161	281	353	334	348
C_{max}/Dose	2.13	3.23	0.803	1.01	0.334	0.348
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	208	282	2080	1940	4190	4670
AUC_{0-24}/Dose	4.16	5.63	5.96	5.55	4.19	4.67
AR C_{max}	10.3	9.37	2.22	1.82	2.06	1.40
AR AUC_{0-24}	2.05	2.95	2.15	1.70	1.86	1.30

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005364.

[a] Data are mean values.

Table 16: A 176-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats

Test article: Acoramidis

Study	8409782											
Species	Rat, Sprague Dawley											
Feeding Condition	Fed											
Vehicle/ Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water											
Method of Administration	Oral (gavage)											
Sample	K2-EDTA plasma and acidified K2-EDTA plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Dose (mg/kg/day)	5		40		15		120		50		350	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6		F/6		M/6		F/6		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 1												
T_{max} (hr)	1.00	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	1.00	1.00	0.500	0.500	0.500	0.500
C_{max} (µg/mL)	4.18	1.31	23.4	7.51	7.40	4.85	125	32.6	37.1	25.0	316	70.2
AUC_{last} (µg*hr/mL)	55.4	1.55	110	20.8	75.4	8.64	358	96.4	109	27.6	1210	386
Dose (mg/kg/day)	5		40		15		120		50		350	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6		F/6		M/6		F/6		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 176												
T_{max} (hr)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	1.00	0.500	0.500	0.500	1.00	2.00
C_{max} (µg/mL)	3.94	0.767	31.1	12.0	6.71	3.76	114	34.1	49.1	19.2	218	105
AUC_{last} (µg*hr/mL)	67.3	0.491	89.2	26.9	80.1	3.45	302	121	126	28.6	1250	828
AR AUC_{last}	1.22	0.317	0.813	1.29	1.06	0.399	0.842	1.26	1.16	1.03	1.03	2.15

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005364 and for acoramidis-AG using a qualified LC-MS/MS method 4006588.

[a] Data are mean values.

Table 17: A 26-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Rats

Test article: Acoramidis

Study	20[redacted]1689											
Species	Rat, Sprague Dawley											
Feeding Condition	Fed											
Vehicle/ Formulation	0.5% Carboxymethylcellulose 400 cps in water											
Method of Administration	Oral (gavage)											
Sample	K2-EDTA plasma and acidified K2-EDTA plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Dose (mg/kg/day)	50				300				600			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6		F/6		M/6		F/6		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 1												
T_{max} (hr)	1.00	0.500	0.500	0.500	1.00	1.00	0.500	0.500	1.00	1.00	0.500	1.00
C_{max} (µg/mL)	13.6	11.3	20.1	4.88	123	89.1	181	49.7	183	120	174	47.5
AUC_{last} (µg*hr/mL)	95.6	32.4	91.8	16.0	731	451	849	214	1280	765	1620	346
AUC_{last}/Dose	1.91	0.648	1.84	0.319	2.44	1.50	2.83	0.713	2.13	1.28	2.69	0.576
Dose (mg/kg/day)	50				300				600			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/6		F/6		M/6		F/6		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 182												
T_{max} (hr)	0.500	0.500	0.500	0.500	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	56.5	16.7	126	17.7	182	79.4	361	58.0	267	99.9	406	135
AUC_{last} (µg*hr/mL)	141	49.5	171	29.8	1560	605	1930	315	2780	1080	3490	899
AUC_{last}/Dose	2.83	0.990	3.41	0.516	5.20	2.02	6.44	1.05	4.63	1.80	5.82	1.50
AR AUC_{last}	1.48	1.53	1.86	1.62	2.13	1.34	2.28	1.47	2.17	1.41	2.16	2.60

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005364 and for acoramidis-AG using a qualified LC-MS/MS method 4006588.
[a] Data are mean values.

Table 18: A 3-day Repeat Dose Pharmacokinetic Study of AG10 in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8350157					
Species	Dog, Beagle					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	20		60		200	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 1						
T_{max} (hr)	0.625	0.250	0.625	1.00	2.00[b]	3.00
C_{max} (µg/mL)	16.7	15.5	26.2	57.5	129[b]	167
C_{max}/Dose	0.835	0.773	0.436	0.958	0.645[b]	0.835
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	68.1	70.1	110	202	1130[b]	965
AUC_{0-24}/Dose	3.40	3.51	1.83	3.36	5.66[b]	4.82
Dose (mg/kg/day)	20		60		200	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 3						
T_{max} (hr)	0.750	0.750	0.750	0.750	2.00	3.00
C_{max} (µg/mL)	18.2	26.5	48.4	61.9	165	212
C_{max}/Dose	0.91	1.33	0.806	1.03	0.823	1.06
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	67.5	97.8	139	278	881	1240
AUC_{0-24}/Dose	3.37	4.89	2.31	4.64	4.41	6.22
AR C_{max}	1.10	1.75	1.85	1.09	1.16	1.32
AR AUC_{0-24}	0.993	1.39	1.26	1.38	0.846	1.30

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean values.

[b] Data are not mean values but listed for informational purposes.

Table 19: A 7-day Repeat Dose Pharmacokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	409272-20[redacted]053101-DPK					
Species	Dog, Beagle					
Feeding Condition	Fasted on Day 1 and Day 7; Fed on Days 2-6					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	5		15		50	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 1						
T_{max} (hr)	0.750	0.500	1.00	0.542	1.00	1.50
C_{max} (µg/mL)	6.14	6.71	11.5	12.0	33.6	43.5
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	51.9	51.0	70.6	80.2	192	248
Day 7						
T_{max} (hr)	0.500	0.250	0.375	0.625	1.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	6.59	7.46	12.8	15.4	36.8	64.5
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	53.3	57.6	80.2	83.3	193	262

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean values,

Table 20: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8350153					
Species	Dog, Beagle					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	50		100		200	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 1						
T_{max} (hr)	0.750	0.375	1.50	2.10	2.11	2.59
C_{max} (µg/mL)	24.9	34.5	40.4	39.8	60.8	65.3
C_{max}/Dose	0.497	0.690	0.404	0.398	0.304	0.327
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AUC_{0-24}/Dose	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Dose (mg/kg/day)	50		100		200	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 7						
T_{max} (hr)	1.00	1.50	2.00	1.09	2.05	1.86
C_{max} (µg/mL)	14.5	16.9	23.5	40.4	77.1	77.4
C_{max}/Dose	0.291	0.337	0.235	0.404	0.386	0.387
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	109	99.2	136	163	438	403

Test article: Acoramidis

Study	8350153					
Species	Dog, Beagle					
AUC_{0-24}/Dose	2.19	1.98	1.36	1.63	2.19	2.02

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.
[a] Data are mean values.

Table 21: A 7-day Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8355818							
Species	Dog, Beagle							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water							
Method of Administration	Oral (gavage)							
Sample	K2-EDTA plasma							
Assay	LC-MS/MS							
Dose (mg/kg/day)	50		200		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 1								
T_{max} (hr)	1.00	1.00	4.00	3.00	6.00	4.00	4.00	4.00
C_{max} (µg/mL)	33.8	38.2	105	111	126	321	276	224
C_{max}/Dose	0.675	0.764	0.525	0.555	0.210	0.535	0.276	0.224
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	157	185	705	665	1010	2040	2550	1310
AUC_{0-24}/Dose	3.13	3.70	3.53	3.33	1.69	3.40	2.55	1.31
Dose (mg/kg/day)	50		200		600		1000	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 7								
T_{max} (hr)	1.50	1.00	2.50	3.00	6.00	4.00	[b]	4.00
C_{max} (µg/mL)	34.9	29.5	71.7	127	325	525	[b]	455
C_{max}/Dose	0.697	0.589	0.358	0.633	0.542	0.874	[b]	0.455
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	160	137	440	680	4320	3440	[b]	4890
AUC_{0-24}/Dose	3.20	2.73	2.20	3.40	7.20	5.73	[b]	4.89
AR C_{max}	1.04	0.769	0.841	1.18	2.69	1.64	[b]	2.26
AR AUC_{0-24}	1.02	0.737	0.705	1.07	3.95	1.69	[b]	3.85

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a non-validated LC-MS/MS method.

[a] Data are mean values.

[b] Both male animals died prior to Day 7.

Table 22: A 4-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8355825							
Species	Dog, Beagle							
Feeding Condition	Fed							
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water							
Method of Administration	Oral (gavage)							
Sample	K2-EDTA plasma							
Assay	LC-MS/MS							
Dose (mg/kg/day)	50		200		400		600	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/5	F5/5
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 1								
T_{max} (hr)	1.00 ± 0	1.70 ± 0.608	4.00 ± 0	4.00 ± 0	4.00 ± 0	3.33 ± 1.15	4.40 ± 2.19	4.80 ± 3.03
C_{max} (µg/mL)	33.9 ± 9.65	32.6 ± 9.12	90.9 ± 14.9	127 ± 36.5	213 ± 54.9	111 ± 92.0	232 ± 129	176 ± 137
C_{max}/Dose	0.677 ± 0.193	0.653 ± 0.182	0.455 ± 0.0747	0.633 ± 0183	0.533 ± 0.137	0.277 ± 0.230	0.387 ± 0.215	0.293 ± 0.229
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	156 ± 58.8	152 ± 16.5	574 ± 49.8	775 ± 216	1700 ± 695	935 ± 828	1700 ± 1360	1700 ± 1480
AUC_{0-24}/Dose	3.11 ± 1.18	3.05 ± 0.330	2.87 ± 0.249	3.88 ± 1.08	4.26 ± 1.74	2.34 ± 2.07	2.84 ± 2.27	2.83 ± 2.46
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/5	F5/5
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]								
Day 28								
T_{max} (hr)	1.00 ± 0	1.33 ± 0.577	2.67 ± 1.15	2.00 ± 0	3.00 ± 1.73	4.00 ± 0	2.75 ± 1.50	3.40 ± 1.34
C_{max} (µg/mL)	42.6 ± 10.0	42.0 ± 3.05	130 ± 100	114 ± 3.00	212 ± 149	317 ± 42.9	336 ± 101	411 ± 69.8
C_{max}/Dose	0.853 ± 0.201	0.840 ± 0.0610	0.652 ± 0.500	0.570 ± 0.0150	0.531 ± 0.372	0.793 ± 0.107	0.559 ± 0.168	0.686 ± 0.116
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	160 ± 26.9	182 ± 14.5	796 ± 673	607 ± 106	1140 ± 880	1740 ± 189	1820 ± 571	2810 ± 579
AUC_{0-24}/Dose	3.19 ± 0.538	3.64 ± 0.291	3.98 ± 3.36	3.03 ± 0.529	2.85 ± 2.20	4.34 ± 0.473	3.03 ± 0.952	4.68 ± 0.964
AR C_{max}	1.30 ± 0.277	1.38 ± 0.505	1.59 ± 1.49	0.947 ± 0.242	0.970 ± 0.619	4.31 ± 2.64	1.58 ± 0.968	4.76 ± 4.52
AR AUC_{0-24}	1.09 ± 0.242	1.20 ± 0.155	1.37 ± 1.13	0.798 ± 0.0986	0.809 ± 0.680	2.97 ± 1.89	1.44 ± 1.13	6.21 ± 7.59

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005365.

[a] Data are mean value ± standard deviation.

Table 23: A 13-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8366847					
Species	Dog, Beagle					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	50		125		300	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4	F/4	M/4	F/4	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 1						
T_{max} (hr)	1.00 ± 0	1.50 ± 0.577	2.00 ± 0	3.50 ± 1.00	3.67 ± 0.816	4.00 ± 0
C_{max} (µg/mL)	23.7 ± 4.71	44.5 ± 2.22	55.6 ± 18.4	56.9 ± 4.53	128 ± 32.7	170 ± 56.6
C_{max}/Dose	0.473 ± 0.0942	0.891 ± 0.0444	0.445 ± 0.147	0.455 ± 0.0363	0.427 ± 0.109	0.567 ± 0.189
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	120 ± 26.4	197 ± 26.8	344 ± 89.6	413 ± 35.9	916 ± 273	1040 ± 106
AUC_{0-24}/Dose	2.40 ± 0.529	3.95 ± 0.536	2.75 ± 0.716	3.30 ± 0.287	3.05 ± 0.909	3.45 ± 0.352
Dose (mg/kg/day)	50		125		300	
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4	F/4	M/4	F/4	M/6	F/6
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
PK Parameters[a]						
Day 91						
T_{max} (hr)	1.00 ± 0	1.33 ± 0.577	2.00 ± 0	4.50 ± 5.00	1.60 ± 0.548	2.67 ± 1.03
C_{max} (µg/mL)	31.0 ± 4.13	49.1 ± 16.4	97.7 ± 24.9	72.5 ± 43.9	119 ± 104	261 ± 51.6
C_{max}/Dose	0.620 ± 0.0826	0.983 ± 0.328	0.782 ± 0.199	0.580 ± 0.351	0.397 ± 0.347	0.868 ± 0.172
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	133 ± 22.8	241 ± 46.1	391 ± 53.1	361 ± 163	684 ± 671	1510 ± 209
AUC_{0-24}/Dose	2.67 ± 0.456	4.81 ± 0.923	3.13 ± 0.425	2.88 ± 1.31	2.28 ± 2.24	5.02 ± 0.697
AR C_{max}	1.32 ± 0.138	1.14 ± 0.416	1.91 ± 0.178	1.25 ± 0.734	0.900 ± 0.672	1.70 ± 0.661
AR AUC_{0-24}	1.13 ± 0.197	1.29 ± 0.418	1.27 ± 0.0344	0.895 ± 0.434	0.770 ± 0.673	1.48 ± 0.350

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005365.

[a] Data are mean value ± standard deviation.

Table 24: A 39-week Repeat Dose Toxicokinetic Study of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	20[redacted]1692											
Species	Dog, Beagle											
Feeding Condition	Fed											
Vehicle/ Formulation	0.5% Carboxymethylcellulose 400 cps in water											
Method of Administration	Oral (gavage)											
Sample	K2-EDTA plasma and acidified K2-EDTA plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Dose (mg/kg/day)	50				112				250			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4		F/4		M/4		F/4		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 1												
T_{max} (hr)	1.25 ± 0.500	1.25 ± 0.500	1.25 ± 0.500	1.25 ± 0.500	2.00 ± 0	2.00 ± 0	1.75 ± 0.500	1.75 ± 0.500	3.67 ± 0.816	4.67 ± 1.63	4.00 ± 0	4.67 ± 1.63
C_{max} (µg/mL)	22.8 ± 2.49	6.90 ± 1.90	26.4 ± 3.24	6.55 ± 1.34	45.8 ± 7.61	18.2 ± 2.95	60.9 ± 24.5	24.6 ± 16.4	147 ± 43.3	117 ± 42.1	146 ± 45.5	95.5 ± 33.7
AUC_{last} (µg*hr/mL)	90.1 ± 16.1	15.5 ± 3.89	91.3 ± 13.7	14.5 ± 3.13	238 ± 32.8	66.1 ± 14.9	282 ± 177	92.3 ± 89.1	818 ± 181	555 ± 228	830 ± 169	439 ± 167
AUC_{last}/Dose	1.80 ± 0.322	0.310 ± 0.0779	1.83 ± 0.274	0.289 ± 0.0626	2.12 ± 0.293	0.590 ± 0.133	2.52 ± 1.58	0.824 ± 0.796	3.27 ± 0.725	2.22 ± 0.911	3.32 ± 0.677	1.76 ± 0.669
Dose (mg/kg/day)	50				112				250			
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4		F/4		M/4		F/4		M/6		F/6	
Analyte	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG	Acora-midis	Acora-midis-AG
PK Parameters[a]												
Day 273												
T_{max} (hr)	1.25 ± 0.500	1.25 ± 0.500	1.00 ± 0	1.00 ± 0	2.00 ± 0	2.00 ± 0	2.00 ± 0	2.00 ± 0	2.80 ± 1.10	3.20 ± 1.10	2.40 ± 0.894	3.60 ± 0.894
C_{max} (µg/mL)	48.2 ± 9.94	18.2 ± 3.32	61.0 ± 6.30	23.1 ± 12.4	105 ± 11.7	53.3 ± 12.8	118 ± 30.1	80.6 ± 45.8	233 ± 53.1	167 ± 38.8	264 ± 77.2	203 ± 61.0
AUC_{last} (µg*hr/mL)	150 ± 17.0	41.5 ± 7.20	159 ± 23.8	43.6 ± 24.9	353 ± 43.2	128 ± 25.6	472 ± 116	260 ± 152	1040 ± 203	719 ± 220	1310 ± 238	916 ± 245
AUC_{last}/Dose	3.00 ± 0.341	0.831 ± 0.144	3.18 ± 0.477	0.872 ± 0.498	3.15 ± 0.386	1.14 ± 0.228	4.22 ± 1.03	2.32 ± 1.35	4.15 ± 0.814	2.88 ± 0.879	5.23 ± 0.951	3.67 ± 0.979
AR AUC_{last}[b]	1.69 ± 0.269	2.76 ± 0.665	1.86 ± 0.355	3.27 ± 1.83	1.50 ± 0.264	2.00 ± 0.570	3.02 ± 2.93	12.2 ± 16.5	1.28 ± 0.276	1.43 ± 0.644	1.58 ± 0.275	2.19 ± 0.719

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005365 and for acoramidis-AG using a qualified LC-MS/MS method 4006589.
[a] Data are mean value ± standard deviation.
[b] $AUC_{last} = AUC_{0-12}$.

5 薬物動態試験：分布

Table 25: Brain Distribution of Acoramidis Following Oral Administration to Rats

Test article: Acoramidis

Study	409272-20[redacted]0919-RPK		
Species	Rat, Sprague Dawley		
Feeding Condition	Fed		
Sample	K2-EDTA plasma, whole brain homogenates, and cerebrospinal fluid (CSF)		
Assay	LC-MS/MS		
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water		
Method of Administration	Oral (gavage)		
Dose (mg/kg)	200 mg/kg		
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3	M/3	M/3
Analyte	Acoramidis	Acoramidis	Acoramidis
Tissue	Plasma	Brain	CSF
PK Parameters			
C_{max} (µg/mL for plasma & CSF; µg/g for brain)	141	0.714	0.622
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00
AUC_{0-24} (µg*hr/mL for plasma and CSF; µg*hr/g for brain)	371	1.96	1.91

Table 26: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Albino Rats: Tissue Concentrations

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Sprague Dawley				
Gender (M/F)/No. of Animals	M/5				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water				
Method of Administration	Oral (gavage)				
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg				
Radionuclide	^{14}C				
Specific Activity (μCi/mg)	0.191				
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)				
	Animal (Sacrifice Time)				
	R0301 (0.5 hr)	R0302 (4 hr)	R0303 (8 hr)	R0304 (24 hr)	R0305 (72 hr)
Adrenal gland(s)	104000	ND[a]	ND[a]	11200	ND
Arterial wall	106000	143000	59600	ND	ND
Bile	1070000	1630000	440000	562000	ND
Blood	77200	128000	55900	24200	ND
Bone	BLQ	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	22100	49800	14200	9120	ND
Brain cerebellum	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain choroid plexus	11300	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	ND	ND	ND	ND
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)				
	Animal (Sacrifice Time)				
	R0301 (0.5 hr)	R0302 (4 hr)	R0303 (8 hr)	R0304 (24 hr)	R0305 (72 hr)
Brain olfactory lobe	BLQ	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	37800	84700	24200	ND	ND
Cecum	29600	121000	ND[a]	ND[a]	8810
Diaphragm	20300	47000	9260	ND	ND
Epididymis	12300[b]	32600[b]	10400	ND	ND
Esophagus	30400	51200	37600	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	11300	34300	13800	5820	ND
Eye lens	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND
Eye uveal tract	16000	29000	16100	ND	ND
Eye(s)	BLQ	10900	5460	ND	ND
Fat (abdominal)	BLQ	9350	ND	ND	ND
Fat (brown)	26000	65200	26500	10700	ND

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Sprague Dawley				
Harderian gland	17100	34400	9600	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	9110	35400	9430	ND	ND
Kidney cortex	130000	140000	78100	68100	ND
Kidney medulla	74900	119000	51600	35900	ND
Kidney(s)	119000	127000	78600	67000	ND
Large intestine	37600	60900	44100	ND	BLQ
Liver	248000	419000	192000	118000	12700
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)				
	Animal (Sacrifice Time)				
	R0301 (0.5 hr)	R0302 (4 hr)	R0303 (8 hr)	R0304 (24 hr)	R0305 (72 hr)
Lung(s)	62700	94400	42400	18100	ND
Lymph node(s)	25200	34200	18400	ND	ND
Muscle	6450	21200	ND	ND	ND
Myocardium	37600	66200	24900	10500	ND
Nasal turbinates	9860	16400	13800	9640	ND
Pancreas	24200	40000	18900	9870	ND
Pituitary gland	19100	30700	18800	12300	ND
Preputial gland	11300[b]	27400[b]	13300[b]	ND	ND
Prostate gland	13000	34000	25300	ND	ND
Salivary gland(s)	25900	48900	18200	8630	ND
Seminal vesicle(s)	BLQ	12300	6050	ND	ND
Skin (nonpigmented)	21700	90100	62800	7090	ND
Small intestine	168000	65300	156000	253000	ND
Spinal cord	BLQ	ND	ND	ND	ND
Spleen	22500	36600	14300	ND	ND
Stomach	38600	115000	31800	17600	ND
Testis(es)	BLQ	25900	8960	BLQ	ND
Thymus	14500	22600	7390	BLQ	ND
Thyroid	27500	50000	16800	9550	ND
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)				
	Animal (Sacrifice Time)				
	R0301 (0.5 hr)	R0302 (4 hr)	R0303 (8 hr)	R0304 (24 hr)	R0305 (72 hr)
Urinary bladder	66300	85100	ND[c]	ND[c]	ND
Urine	105000	129000	513000	1010000	ND

Abbreviations: BLQ = Below the limit of quantitation (< 4950 ng equivalents [^{14}C]AG10/g), ND = Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue)

[a] Tissue not detectable due to flare from gastrointestinal contents.

[b] Tissue appeared to be fat soaked.
[c] Tissue not detectable due to flare from urine.

Table 27: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Albino Rats: Estimated Pharmacokinetic Parameters

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Sprague Dawley				
Gender (M/F)/No. of Animals	M/5				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water				
Method of Administration	Oral (gavage)				
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg				
Radionuclide	^{14}C				
Specific Activity (μCi/mg)	0.191				
Matrix	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq*hr/g)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Adrenal gland(s)	1379600	1497708	104000	0.5	7.31
Arterial wall	867450	1139848	143000	4	3.17
Blood (LSC)	2829470	2848793	193000	4	10.9
Blood (QWBA)	1387000	NC	128000	4	NC
Bone	NC	NC	NC	0.5	NC
Bone marrow	445910	775470	49800	4	25
Brain cerebellum	NC	NC	NC	0.5	NC
Brain cerebrum	NC	NC	NC	0.5	NC
Brain choroid plexus	2825	NC	11300	0.5	NC
Brain medulla	NC	NC	NC	0.5	NC
Brain olfactory lobe	NC	NC	NC	0.5	NC
Bulbo urethral gland	441625	518894	84700	4	2.21
Matrix	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq*hr/g)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Cecum	4684490	4913155	121000	4	18.0
Diaphragm	235370	258172	47000	4	1.71
Epididymis	167650	204061	32600	4	2.43
Esophagus	328000	815148	51200	4	8.98
Exorbital lacrimal gland	335785	443642	34300	4	12.8
Eye lens	NC	NC	NC	0.5	NC
Eye uveal tract	172950	282385	29000	4	4.71
Eye(s)	51795	83387	10900	4	4.01
Fat (abdominal)	16363	NC	9350	4	NC
Fat (brown)	647100	779627	65200	4	8.59
Harderian gland	182400	212487	34400	4	2.17
Intra-orbital lacrimal gland	169830	198345	35400	4	2.1
Kidney cortex	2110800	10063339	140000	4	80.9
Kidney medulla	1399250	2982560	119000	4	30.6
Kidney(s)	2036250	8749716	127000	4	69.5
Large intestine	391775	938288	60900	4	8.59

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Sprague Dawley				
Liver	8068050	8360949	419000	4	16
Lung(s)	1048200	1292177	94400	4	9.34
Lymph node(s)	215450	334184	34200	4	4.47
Muscle	50000	NC	21200	4	NC
Myocardium	656450	785792	66200	4	8.54
Matrix	AUC_{0-t} (ng-eq*hr/g)	AUC_{0-inf} (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Nasal turbinates	296340	676116	16400	4	27.3
Pancreas	466360	626642	40000	4	11.3
Pituitary gland	439725	745371	30700	4	17.2
Plasma (LSC)	5288600	5313228	332000	4	10
Preputial gland	151950	225555	27400	4	3.84
Prostate gland	204100	546505	34000	4	9.38
Salivary gland(s)	486215	600866	48900	4	9.21
Seminal vesicle(s)	58225	92332	12300	4	3.91
Skin (nonpigmented)	1065995	1120641	90100	4	5.34
Small intestine	4164875	NC	253000	24	NC
Spinal cord	NC	NC	NC	0.5	NC
Spleen	210850	271715	36600	4	2.95
Stomach	967250	1443274	115000	4	18.7
Testis(es)	115045	148809	25900	4	2.61
Thymus	128530	154974	22600	4	2.48
Thyroid	486900	757420	50000	4	19.6
Urinary bladder	281525	NC	85100	4	NC

Abbreviations: NC = Not calculated

Table 28: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Pigmented Rats: Tissue Concentrations

Test article: Acoramidis

Study	8355837						
Species	Rat, Long Evans						
Gender (M/F)/No. of Animals	M/7						
Feeding Condition	Fasted						
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water						
Method of Administration	Oral (gavage)						
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg						
Radionuclide	^{14}C						
Specific Activity (μCi/mg)	0.191						
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)						
	Animal (Sacrifice Time)						
	R0306 (0.5 hr)	R0307 (4 hr)	R0308 (8 hr)	R0309 (24 hr)	R0310 (48 hr)	R0311 (72 hr)	R0312 (168 hr)
Adrenal gland(s)	260000	ND[a]	75900	ND	ND	ND	ND
Arterial wall	277000	144000	89100	ND	ND	ND	ND
Bile	807000	701000	1180000	192000	ND	ND	ND
Blood	247000	111000	107000	ND	ND	ND	ND
Bone	25900	BLQ	6400	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	88100	36300	33600	ND	ND	ND	ND
Brain cerebellum	5690	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	5440	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Brain choroid plexus	46300	19800	8850	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)						
	Animal (Sacrifice Time)						
	R0306 (0.5 hr)	R0307 (4 hr)	R0308 (8 hr)	R0309 (24 hr)	R0310 (48 hr)	R0311 (72 hr)	R0312 (168 hr)
Brain olfactory lobe	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	163000	72300	52600	ND	ND	ND	ND
Cecum	136000	75700	ND[a]	30400	54800	15300	ND
Diaphragm	80900	36600	44900	ND	ND	ND	ND
Epididymis	53200	41900	58400[b]	ND	ND	ND	ND
Esophagus	155000	96600	66000	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	81600	33700	28800	ND	ND	ND	ND
Eye lens	BLQ	BLQ	9140	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	77500	35600	25500	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	28800	17300	14500	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	13000	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	73200	42200	24500	ND	ND	ND	ND

Test article: Acoramidis

Study	8355837						
Species	Rat, Long Evans						
Harderian gland	76700	28700	17700	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	97200	81100	29900	ND	ND	ND	ND
Kidney cortex	216000	113000	73800	20600	ND	ND	ND
Kidney medulla	167000	105000	69700	12200	ND	ND	ND
Kidney(s)	204000	107000	87100	17900	BLQ	ND	ND
Large intestine	125000	57400	41200	17300	5820	28600	ND
Liver	554000	354000	283000	53200	22700	15300	ND
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)						
	Animal (Sacrifice Time)						
	R0306 (0.5 hr)	R0307 (4 hr)	R0308 (8 hr)	R0309 (24 hr)	R0310 (48 hr)	R0311 (72 hr)	R0312 (168 hr)
Lung(s)	180000	84900	73700	BLQ	ND	ND	ND
Lymph node(s)	99700	53600	38300	ND	ND	ND	ND
Muscle	57600	22000	13600	ND	ND	ND	ND
Myocardium	152000	58300	64300	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	21200	18700	23500	ND	ND	ND	ND
Pancreas	111000	45100	44300	5030	ND	ND	ND
Pituitary gland	83200	35300	33200	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	42700[b]	34700[b]	19100[b]	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	49500	22900	45700	ND	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	127000	44500	42000	ND	ND	ND	ND
Seminal vesicle(s)	13800	BLQ	9060	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	109000	60900	31500	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	115000	76300	44200	ND	ND	ND	ND
Small intestine	198000	ND[a]	ND[a]	63100	ND	ND	ND
Spinal cord	5100	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	89500	38000	28200	ND	ND	ND	ND
Stomach	200000	73900	56100	BLQ	ND	ND	ND
Testis(es)	15500	23700	24100	ND	ND	ND	ND
Thymus	64500	26200	27200	ND	ND	ND	ND
Tissue	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]AG10/g)						
	Animal (Sacrifice Time)						
	R0306 (0.5 hr)	R0307 (4 hr)	R0308 (8 hr)	R0309 (24 hr)	R0310 (48 hr)	R0311 (72 hr)	R0312 (168 hr)
Thyroid	102000	38100	30300	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	123000	70000	ND[c]	32300	ND	ND	ND
Urine	125000	214000	1140000	76900	ND	ND	ND

Abbreviations: BLQ = Below the limit of quantitation (<4950 ng equivalents [^{14}C]AG10/g), ND = Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue)

[a] Tissue not detectable due to flare from gastrointestinal contents.
[b] Tissue appeared to be fat soaked.
[c] Tissue not detectable due to flare from urine.

Table 29: Quantitative Whole-Body Autoradiography After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis to Male Pigmented Rats: Estimated Pharmacokinetic Parameters

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Long Evans				
Gender (M/F)/No. of Animals	M/7				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water				
Method of Administration	Oral (gavage)				
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg				
Radionuclide	^{14}C				
Specific Activity (μCi/mg)	0.191				
Matrix	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq*hr/g)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$(hr)
Adrenal gland(s)	1324625	1786954	260000	0.5	4.22
Arterial wall	1272200	1864244	277000	0.5	4.61
Blood (LSC)	3096020	3120470	279000	0.5	15.7
Blood (QWBA)	1124250	NC	247000	0.5	NC
Bone	127600	161936	25900	0.5	3.72
Bone marrow	379525	2118393	88100	0.5	35.9
Brain cerebellum	1423	NC	5690	0.5	NC
Brain cerebrum	1360	NC	5440	0.5	NC
Brain choroid plexus	184550	224746	46300	0.5	3.15
Brain medulla	NC	NC	NC	0.5	NC
Brain olfactory lobe	NC	NC	NC	0.5	NC
Bulbo urethral gland	702325	1055067	163000	0.5	4.65
Matrix	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq*hr/g)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$(hr)
Cecum	3329075	3616886	136000	0.5	13.0
Diaphragm	388850	NC	80900	0.5	NC
Epididymis	380325	NC	58400	8	NC
Esophagus	804250	1386283	155000	0.5	6.11
Exorbital lacrimal gland	347175	558158	81600	0.5	5.08
Eye lens	18280	NC	9140	8	NC
Eye uveal tract	339500	513348	77500	0.5	4.73
Eye(s)	151475	311916	28800	0.5	7.67
Fat (abdominal)	3250	NC	13000	0.5	NC
Fat (brown)	353650	521804	73200	0.5	4.76
Harderian gland	296425	387783	76700	0.5	3.58
Intra-orbital lacrimal gland	558325	745936	97200	0.5	4.35
Kidney cortex	1758550	2005032	216000	0.5	8.29
Kidney medulla	1522350	1635316	167000	0.5	6.42
Kidney(s)	1823450	2004623	204000	0.5	7.02
Large intestine	1706130	NC	125000	0.5	NC

Test article: Acoramidis

Study	8355837				
Species	Rat, Long Evans				
Liver	7057900	7647209	554000	0.5	26.7
Lung(s)	825775	1455261	180000	0.5	5.92
Lymph node(s)	477000	779691	99700	0.5	5.48
Muscle	224900	296197	57600	0.5	3.63
Myocardium	651225	NC	152000	0.5	NC
Matrix	AUC_{0-t} (ng-eq*hr/g)	AUC_{0-inf} (ng-eq*hr/g)	C_{max} (ng-eq/g)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$(hr)
Nasal turbinates	159525	NC	23500	8	NC
Pancreas	874365	914628	111000	0.5	5.55
Pituitary gland	365175	2530401	83200	0.5	45.2
Plasma (LSC)	5193070	5259316	480000	0.5	18.1
Preputial gland	253725	430149	42700	0.5	6.4
Prostate gland	276275	NC	49500	0.5	NC
Salivary gland(s)	504875	795762	127000	0.5	4.8
Seminal vesicle(s)	89175	250653	13800	0.5	12.4
Skin (nonpigmented)	509375	699710	109000	0.5	4.19
Skin (pigmented)	604525	950629	115000	0.5	5.43
Small intestine	3117425	4414137	198000	0.5	14.2
Spinal cord	1275	NC	5100	0.5	NC
Spleen	377900	563293	89500	0.5	4.56
Stomach	789325	1125032	200000	0.5	4.15
Testis(es)	168075	NC	24100	8	NC
Thymus	281650	NC	64500	0.5	NC
Thyroid	407475	597601	102000	0.5	4.35
Urinary bladder	1391500	NC	123000	0.5	NC

Abbreviations: NC = Not calculated

6 薬物動態試験：血漿タンパク結合

Table 30: Plasma Protein Binding of Acoramidis Using Equilibrium Dialysis

Test article: Acoramidis

Study No.: DATED-[redacted]20[redacted]			
Test Article: Acoramidis			
Study System: Sprague Dawley rat, beagle dog, cynomolgus monkey, and human plasma			
Target Entity, Test System, and Method: Evaluation of protein binding of acoramidis in plasma of various species using Rapid Equilibrium Dialysis; 4-hour incubation at 37°C, compound measured in PBS buffer and plasma compartments using LC-MS/MS			
Species	Nominal Concentration (μM)	% Bound Average	Mean f_u (%)[a]
Sprague Dawley Rat	10	97.8	5.0
	50	92.3	
Beagle Dog	10	94.8	9.2
	50	86.8	
Cynomolgus Monkey	10	98.8	2.1
	50	97.0	
Human	10	96.5	3.6
	50	96.3	

[a] Data are mean of 2 replicates.

7　薬物動態試験：妊娠又は授乳中動物の薬物動態

Table 31:　Oral Toxicokinetics in Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Female Rats

Test article: Acoramidis

Study	8411734					
Species	Rat, Sprague Dawley					
Sex/No. of Animals	Females/3 per timepoint/dose level					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in deionized water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma and acidified K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	50		350		1000	
Analyte	Acoramidis	Acoramidis-AG	Acoramidis	Acoramidis-AG	Acoramidis	Acoramidis-AG
PK Parameters						
Gestation Day 12						
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C_{max} (µg/mL)	23.1	4.93	171	40.7	281	164
C_{max}/Dose	0.461	0.0985	0.489	0.116	0.281	0.164
AUC_{0-t} (µg*hr/mL)	73.5	8.89	1630	368	3720	1610
AUC_{0-t}/Dose	1.47	0.178	4.65	1.05	3.72	1.61

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC-MS/MS method 4005364 and for acoramidis-AG using a qualified LC-MS/MS method 4006588.

Table 32: Oral Toxicokinetics in Embryo-Fetal Development Study in Pregnant Female Rabbits

Test article: Acoramidis

Study	8411735					
Species	Rabbit, New Zealand					
Sex/No. of Animals	Females/3 per timepoint/dose level					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in deionized water					
Method of Administration	Oral (gavage)					
Sample	K2-EDTA plasma and acidified K2-EDTA plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day)	25		75		200	
Analyte	Acoramidis	Acoramidis-AG	Acoramidis	Acoramidis-AG	Acoramidis	Acoramidis-AG
PK Parameters						
Gestation Day 13						
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00
C_{max} (µg/mL)	19.7	0.535	117	5.35	319	44.6
C_{max}/Dose	0.787	0.0214	1.56	0.0713	1.60	0.223
AUC_{0-t} (µg*hr/mL)	147	1.44	410	12.7	1400	130
AUC_{0-t}/Dose	5.90	0.0576	5.47	0.170	6.99	0.652

Note: Samples were analyzed for acoramidis using a validated LC/MS/MS method 4007882 and for acoramaids-AG using a qualified LC-MS/MS method 4007963.

8 薬物動態試験：その他の分布試験

Table 33: In Vitro Blood: Plasma Ratio and Erythrocyte Partitioning of Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: EIDOS-20[redacted]0921-BPR			
Test Article: Acoramidis			
Study System: Sprague Dawley rat, beagle dog, cynomolgus monkey, and human plasma			
Target Entity, Test System, and Method: Evaluation of blood to plasma and erythrocyte to plasma ratios of acoramidis in blood of various species; 1-hour incubation at 37°C, compound measured in blood and plasma compartments using LC-MS/MS. Hematocrit determined using a micro-hematocrit tube.			
Species	Nominal Concentration (μM)	Blood to Plasma Ratio ($K_{B/P}$)[a]	Erythrocyte to Plasma Ratio ($K_{E/P}$)[a]
Sprague Dawley Rat	0.1	0.64 ± 0.05	0.09 ± 0.12
	1	0.68 ± 0.21	0.41
	10	0.70 ± 0.05	0.23 ± 0.13
Beagle Dog	0.1	0.56 ± 0.07	0.10
	1	0.50	~ 0
	10	0.48 ± 0.09	~ 0
Cynomolgus Monkey	0.1	0.56 ± 0.01	~ 0
	1	0.64 ± 0.17	~ 0
	10	0.71 ± 0.10	0.30 ± 0.24
Human	0.1	0.53 ± 0.08	~ 0
	1	0.57 ± 0.03	~ 0
	10	0.52 ± 0.08	~ 0

[a] Data presented are mean ± standard deviation of 3 replicates.

9 薬物動態試験：In vivo 代謝

Table 34: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Male Rats

Test article: Acoramidis

Study	8355837
Species	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in reverse osmosis (RO) water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.191

Component Designation	Metabolite Designation	Matrix					
		Plasma		Urine		Feces	
		Present	% of Radioactivity Injected	Present	% of Radioactive Dose	Present	% of Radioactive Dose
M1	AG10 GLU-A	X	0.701			X	2.16
M2	AG10 GLU-B	X	1.14	X	0.0477	X	0.357
M3	AG10 GLU-C	X	2.04	X	0.546	X	1.96
M5	AG10 glycine	X	24.6	X	0.988	X	
M6	Oxy-AG10	X		X		X	
M4 (AG10 GLU-D)	AG10 BGLUC-3	X		X			
M7	AG10 GLU-E						
M8	Oxy-AG10	X	0.884	X	2.06		
M9	Oxy-AG10 glucuronide	X					
AG10	AG10	X	60.7	X	6.59	X	61.5
M11	Oxy-AG10	X		X		X	
M10	AG10 glucuronide	X					
M12	Unknown			X	0.207		
M13	Oxy-AG10	X	0.766	X	4.69	X	1.91
M14	Unknown					X	0.513
M15	Unknown					X	0.647
M16	Structure not proposed					X	2.39

Table 35: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Female Rats

Test article: Acoramidis

Study	8355837
Species	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/No. of Animals	F/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in reverse osmosis (RO) water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.191

Component Designation	Metabolite Designation	Matrix					
		Plasma		Urine		Feces	
		Present	% of Radioactivity Injected	Present	% of Radioactive Dose	Present	% of Radioactive Dose
M1	AG10 GLU-A	X	0.438			X	1.69
M2	AG10 GLU-B	X	0.906	X	0.259	X	0.566
M3	AG10 GLU-C	X	1.76	X	0.570	X	1.25
M5	AG10 glycine	X	16.1	X	0.302	X	
M6	Oxy-AG10	X		X		X	
M4 (AG10 GLU-D)	AG10 BGLUC-3	X		X			
M7	AG10 GLU-E						
M8	Oxy-AG10	X	0.542	X	1.34		
M9	Oxy-AG10 glucuronide	X					
AG10	AG10	X	70.9	X	15.7	X	54.9
M11	Oxy-AG10	X		X		X	
M10	AG10 glucuronide	X					
M12	Unknown			X	ND		
M13	Oxy-AG10	X	1.12	X	5.07	X	1.22
M14	Unknown					X	0.735
M15	Unknown					X	0.683
M16	Structure not proposed					X	0.976

Table 36: Metabolite Profiling in Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Bile-Duct Cannulated Rats

Test article: Acoramidis

Study	8355837
Species	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in reverse osmosis (RO) water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.191

Component Designation	Metabolite Designation	Matrix			
		Bile		Feces	
		Present	% of Radioactive Dose	Present	% of Radioactive Dose
M1	AG10 GLU-A	X	7.27	X	ND
M2	AG10 GLU-B	X	18.6	X	ND
M3	AG10 GLU-C	X	9.02	X	1.08
M5	AG10 glycine	X	30.4	X	
M6	Oxy-AG10	X		X	
M4 (AG10 GLU-D)	AG10 BGLUC-3	X			
M7	AG10 GLU-E	X	1.95		
M8	Oxy-AG10				
M9	Oxy-AG10 glucuronide				
AG10	AG10	X	8.84	X	4.93
M11	Oxy-AG10	X		X	
M10	AG10 glucuronide				
M12	Unknown				
M13	Oxy-AG10			X	ND
M14	Unknown			X	0.141
M15	Unknown			X	ND
M16	Structure not proposed	X	2.01	X	ND

Table 37: Metabolite Profiling in Plasma and Excreta After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	8355830
Species	Dog, Beagle
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3, F/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose in reverse osmosis (RO) water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	250 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.297

Component Designation	Metabolite Designation	Matrix								
		Plasma			Urine			Feces		
		Present	% of Radioactivity Injected		Present	% of Radioactive Dose		Present	% of Radioactive Dose	
			Male	Female		Male	Female		Male	Female
M1	AG10 GLU-A	X	0.337	0.633	X	0.135	0.507			
M2	AG10 GLU-B	X	0.622	0.661	X	0.113	0.361			
M3	AG10 GLU-C	X	1.76	3.02	X	0.543	1.18			
M6	Oxy-AG10	X	14.0	44.6	X	0.389	7.86			
M4 (AG10 GLU-D)	AG10 BGLUC-3	X			X					
M8	Oxy-AG10	X	0.667	0.253	X	0.182	0.327			
M9	Oxy-AG10 glucuronide	X			X					
AG10	AG10	X	56.3	47.2	X	19.8	14.0	X	43.9	71.2
M11	Oxy-AG10	X			X			X		
M10	AG10 glucuronide	X			X					
M13	Oxy-AG10	X	0.667	0	X	1.73	0.921	X	0.522	0.421

10 薬物動態試験：In vitro 代謝

Table 38: Metabolic Stability of Acoramidis in Rat, Dog, Monkey, and Human Hepatocytes

Test article: Acoramidis

Study No.: EIDOS-20[redacted]0921-HMS
Test Article: Acoramidis
Study System: Cryopreserved hepatocytes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis, at 1 µM, was incubated in triplicate with cryopreserved mouse and human hepatocytes (at ca. 1×10^6 viable cells/mL) at ca. 37°C for 0 and 2 hr. After termination of the reaction by protein precipitation, peak area ratios of analyte/internal standard were determined by LC-MS/MS.

Species	$t_{1/2}$ (min)	$CL_{int(hep)}$ (µL/min/10^6cells)	$CL_{int(liver)}$ (mL/min/kg)	% Remaining at 2 hr
Rat	133	5.20	24.3	54.6
Dog	> 365	<1.9	<13.1	80.3
Monkey	33	21	75.6	6.41
Human	85.6	8.10	29.3	35.1

Abbreviations: $CL_{int\ (hep)}$ = 0.693/half- life/ million cells per mL, $CL_{int(liver)} = CL_{int\ (hep)}$ × million cells /g liver weight × g liver weight/kg body weight

Table 39: Metabolite Profiling in Rat, Dog, Monkey, and Human Hepatocytes with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]906
Test Article: Acoramidis
Study System: Cryopreserved hepatocytes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis, at 10 µM, was incubated in triplicate with cryopreserved rat, dog, monkey, and human hepatocytes (at ca. 1×10^6 viable cells/mL) at ca. 37°C for 0 and 4 hr. Selected rat, dog, monkey, and human incubation samples were used for metabolite characterization and identification. Metabolite characterization and identification were accomplished by LC/FT-MS.

Compound Code	Metabolic Reaction	% Total of Peak Area			
		Rat	Dog	Monkey	Human
AG10	Parent	82.1	75.4	30.7	23.8
AG10-AG/1	Acylglucuronidation	0.67	1.0	3.2	7.3
AG10-AG/2	Acylglucuronidation	1.6	2.1	7.7	8.8
AG10-AG/3	Acylglucuronidation	4.7	6.5	18.4	21.5
AG10-AG/4	Acylglucuronidation	8.4	14.7	36.0	34.9
M308/1	Oxidation	NA	NA	0.02	0.08
M308/2	Oxidation	0.34	0.04	0.21	0.23
M308/3	Oxidation	1.4	0.04	0.36	0.25
M349/1	Glycine conjugation	0.5	NA	NA	NA
M399/1	Tuarine conjugation	0.28	0.27	NA	NA
M484/1	Oxidation + acylglucuronidation	NA	NA	0.42	0.45
M484/2	Oxidation + acylglucuronidation	NA	NA	0.19	0.08
M484/3a	Oxidation + acylglucuronidation	NA	NA	0.31	0.15
M484/3b	Oxidation + acylglucuronidation	NA	NA	0.31	0.33
M484/3c	Oxidation + acylglucuronidation	0.02	NA	0.72	0.76
M484/3d		0.04	NA	1.5	1.4
Total		100	100	100	100

Note: The abundance was estimated based on the peak area of individual related component vs. the peak area of total related components assuming that the related components exhibited identical MS response under the analytical conditions.

$$\%\text{Total} = \frac{\text{Peak Area of a Related Component}}{\text{Peak Area of Total Related Components}} \text{ x } 100\%$$

Table 40: Metabolite Profiling in Mouse and Human Hepatocytes with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: QA-5239 Eidos 021120[redacted]
Test Article: Acoramidis
Study System: Cryopreserved hepatocytes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis, at 10 µM, was incubated in triplicate with cryopreserved mouse and human hepatocytes (at ca. 1×10^6 viable cells/mL) at ca. 37°C for 0 and 4 hr. Selected rat, dog, monkey, and human incubation samples were used for metabolite characterization and identification. Metabolite characterization and identification were accomplished by UHPLC/UV/MS.

Metabolite Name	Metabolic Reaction	Relative Abundance (%)[a]	
		Mouse	Human
AG10	Parent	60.3%	18.8%
M468 RT6.2	Acylglucuronidation	0.6%	13.9%
M468 RT6.8	Acylglucuronidation	3.7%	27.0%
M468 RT7.1	Acylglucuronidation	7.5%	17.7%
M468 RT7.3	Acylglucuronidation	15.8%	11.6%
M468 RT10.6	Acylglucuronidation	<0.1%	5.6%
M399 RT7.8	Taurine conjugation	4.6%	<0.1%

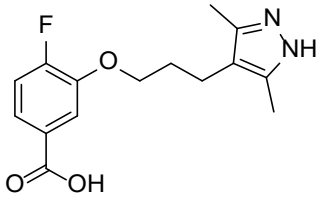
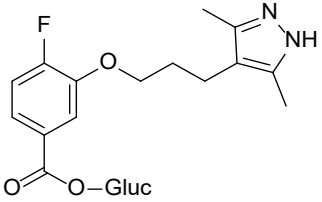
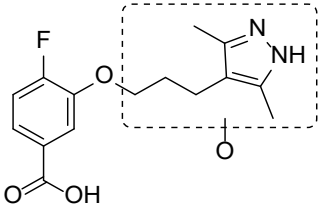
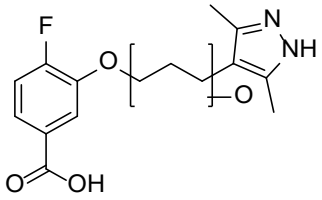
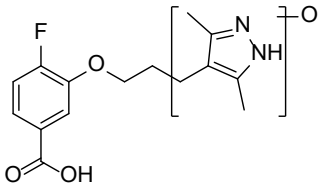
[a] The relative abundance was estimated based on the peak area of individual metabolite peak vs. the peak area of all integrated peaks (MH^+ peak), assuming that they all exhibited identical MS response under the analytical conditions.

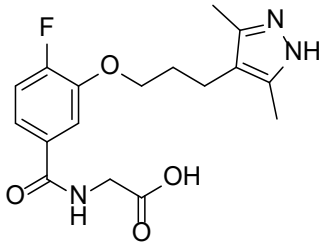
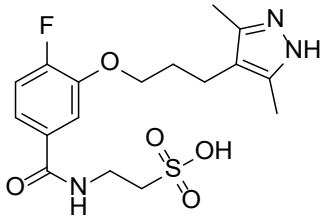
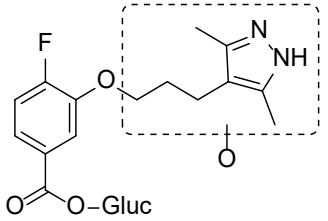
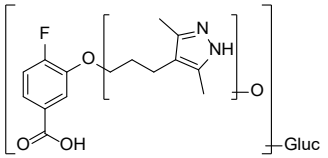
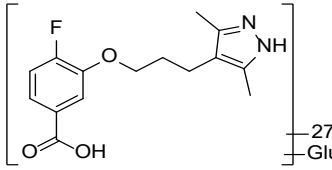
$$\text{Relative abundance} = \frac{\text{Peak area of indivisual metabolite}}{\text{Total peak area of all peake}} \text{ x } 100\%$$

11 薬物動態試験：推定代謝経路

Table 41: Characteristics of Metabolites of Acoramidis Detected in Samples from Animal and In Vitro Studies

Test article: Acoramidis

Study Numbers: [redacted]906, 8355837, 8355830					
Metabolite	Reaction	$[M+H]^+$	Proposed Formula	Structure	Sample
Acoramidis	Parent	293	$C_{15}H_{18}FN_2O_3^+$		In vitro: RH, DH, MKH, HH, In vivo: RP, RU, RB, RF, DP, DU
Acoramidis acylglucuronide (M1, M2, M3, M4, AG10-AG/1, AG10-AG/2, AG10-A/3, AG10-AG/4)	Acylglucuronidation	469	$C_{21}H_{26}FN_2O_9^+$		In vitro: RH, DH, MKH, HH, In vivo: RP, RU, RB, RF, DP, DU
M308/1, M308/2, M308/3	Oxidation	309	$C_{15}H_{18}FN_2O_4^+$		In vitro: RH, DH, MKH, HH
M6, M11	Oxidation	309	$C_{15}H_{18}FN_2O_4^+$		In vivo: RP, RU, RB, RF, DP, DU, DF
M8, M13	Oxidation	309	$C_{15}H_{18}FN_2O_4^+$		In vivo: RP, RU, RF, DP, DU, DF

Study Numbers: [redacted]906, 8355837, 8355830					
Metabolite	Reaction	$[M+H]^+$	Proposed Formula	Structure	Sample
M5, M349/1	Glycine conjugation	350	$C_{17}H_{21}FN_3O_4^+$		In vitro: RH, In vivo: RP, RU, RB, RF
M399/1	Sulfation	400	$C_{17}H_{23}FN_3O_5S^+$		In vitro: RH, DH
M484/1[a], M484/2[a]	Oxidation and acylglucuronidation	485	$C_{21}H_{26}FN_2O_{10}^+$		In vitro: RH, MKH, HH
M9, M10	Oxidation and glucuronidation	483	$C_{22}H_{28}FN_2O_9^+$		In vitro: RP, DP, DU
M16	Unknown	743.2786	NA		In vivo: RB, RF

Abbreviations: DF = dog feces, DH = dog hepatocytes, DP = dog plasma, DU = dog urine, HH = human hepatocytes, MKH = monkey hepatocyte, RB = rat bile, RF = rat feces, RH = rat hepatocytes, RP = rat plasma, RU = rat urine

[a]Each contained a few isomers, likely migrated glucuronides.

12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害及び誘導

Table 42: Evaluation of CYP Induction by Acoramidis in Human Hepatocytes: mRNA Levels

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]3075
Test Article: Acoramidis
Study System: Cryopreserved human hepatocytes (3 donors)
Target entity, Test system, and Method: Human hepatocytes were treated once daily for 3 consecutive days, in triplicate, with supplemented MCM (37 ± 2°C) containing 0.1% v/v DMSO (vehicle control), flumazenil (25 µM, negative control), one of seven concentrations of AG10 (0.15, 0.5, 1.5, 5, 15, 50 or 150 µM) or one of the positive control CYP enzyme inducers omeprazole (50 µM), phenobarbital (750 µM) or rifampin (20 µM). The cultures were incubated in a humidified culture chamber (37 ± 2°C at 95% relative humidity, 95/5% air/CO_2). CYP mRNA levels were quantified by RT-PCR and cell viability was assessed by measuring release of LDH by UV absorbance.

CYP Isoform Treatment[a]	Concentration (µM)	Percent Positive Control			Percent Decrease[b]			% LDH Release[b,c]								
								Donor 1			Donor 2			Donor 3		
		Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	24 hr	48 hr	72 hr	24 hr	48 hr	72 hr	24 hr	48 hr	72 hr
CYP1A2																
Acoramidis	0.15	−0.0899	−0.607	0.316	14.7	19.8	NA	0	0	NT	0	4.0	0	0	3.1	1.2
	0.5	−0.0253	−0.349	0.249	4.13	11.4	NA	0	0		0	0	0.1	0	0.5	1.8
	1.5	−0.137	−0.544	0.141	22.4	17.7	NA	0	0		0	0	0	0	0	0
	5	−0.157	0.159	0.327	25.5	NA	NA	0	0		0	0	1.5	0	2.4	0.4
	15	−0.118	−0.106	0.405	19.3	3.45	NA	0	0		11.0	11.4	2.6	0	12.5	1.3
	50	0.0589	0.775	0.83	NA	NA	NA	0	0		0	3.6	4.1	0	3.6	0
	150	0.450	1.45	2.13	NA	NA	NA	0	0		0	3.0	0	0	1.9	0
DMSO	0.1% (v/v)	0	0	0	0	0	0	0	0		0	3.7	10.3	0	5.9	1.8
Flumazenil	25	−0.0932	0.25	0.142	15.2	NA	NA									
Omeprazole	50	100	100	100	NA	NA	NA									
Medium alone (MCM+)								0	0	NT	0	0	0	0	0	0
Triton X-100	1% (v/v)							100	100		100	100	100	100	100	100
CYP2B6																
Acoramidis	0.15	0.934	−7.73	1.50	NA	18.5	NA	0	0	NT	0	4	0	0	3.1	1.2
	0.5	−0.125	−4.01	2.83	0.967	9.60	NA	0	0		0	0	0.1	0	0.5	1.8
	1.5	2.29	−5.77	0.399	NA	13.8	NA	0	0		0	0	0	0	0	0
	5	−1.64	−4.02	0.999	12.7	9.63	NA	0	0		0	0	1.5	0	2.4	0.4
	15	0.525	−6.85	0.304	NA	16.4	NA	0	0		11.0	11.4	2.6	0	12.5	1.3
	50	−1.43	−2.55	1.18	11.1	6.10	NA	0	0		0	3.6	4.1	0	3.6	0
	150	5.90	2.69	3.47	NA	NA	NA	0	0		0	3.0	0	0	1.9	0
DMSO	0.1% (v/v)	0	0	0	0	0	0	0	0		0	3.7	10.3	0	5.9	1.8
Flumazenil	25	0.0215	7.13	1.71	NA	NA	NA									
Phenobarbital	750	100	100	100	NA	NA	NA									
Medium alone (MCM+)								0	0	NT	0	0	0	0	0	0
Triton X-100	1% (v/v)							100	100		100	100	100	100	100	100

CYP Isoform Treatment[a]	Concentration (μM)	Percent Positive Control			Percent Decrease[b]			% LDH Release[b,c]								
								Donor 1			Donor 2			Donor 3		
		Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	24 hr	48 hr	72 hr	24 hr	48 hr	72 hr	24 hr	48 hr	72 hr
CYP3A4																
Acoramidis	0.15	−0.127	−1.50	0.253	6.83	27.4	NA	0	0	NT	0	4	0	0	3.1	1.2
	0.5	−0.262	−1.22	0.289	14.1	22.4	NA	0	0		0	0	0.1	0	0.5	1.8
	1.5	0.496	−2.21	−0.0349	NA	40.5	2.9	0	0		0	0	0	0	0	0
	5	−0.251	−1.11	0.214	13.5	20.3	NA	0	0		0	0	1.5	0	2.4	0.4
	15	0.0352	−1.52	0.0814	NA	27.9	NA	0	0		11.0	11.4	2.6	0	12.5	1.3
	50	0.566	0.832	0.238	NA	NA	NA	0	0		0	3.6	4.1	0	3.6	0
	150	5.40	5.19	1.62	NA	NA	NA	0	0		0	3.0	0	0	1.9	0
DMSO	0.1% (v/v)	0	0	0	0	0	0	0	0		0	3.7	10.3	0	5.9	1.8
Flumazenil	25	−0.362	0.688	0.0850	19.5	NA	NA									
Rifampin	29	100	100	100	NA	NA	NA									
Medium alone (MCM+)								0	0	NT	0	0	0	0	0	0
Triton X-100	1% (v/v)							100	100		100	100	100	100	100	100

Abbreviations: NA = Not applicable (fold change was > 1), NT = Not tested due to a laboratory error

[a] DMSO: Test article solvent; Negative control: Medium alone (MCM+); Positive control: 1% Triton X-100.

[b] Percentages < 100 are rounded to one decimal place; percentages ≥ 100 are rounded to nearest whole number.

[c] Lack of a bar on the graph indicates when compared to the positive control there was not an increase in LDH release.

Table 43: Evaluation of Direct CYP Inhibition by Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: DATED-[redacted]20[redacted] and 20[redacted]1213-E005-01
Test Article: Acoramidis
Study System: Pooled human liver microsomes
Target entity, Test system, and Method: Pooled human liver microsomes were incubated for 10 to 15 min at 37°C with probe substrates in the absence or presence of acoramidis (concentration range from 0.069 – 50.0 µM for CYP2B6 and from 0.2048 – 50.0 µM for the other isozymes) or reference inhibitors. Reactions were initiated by the addition of 1 mM NADPH and terminated by the addition of acetonitrile, and probe substrate metabolites quantified by LC-MS/MS.

CYP Isoform	Probe Substrate	Substrate Conc. (µM)	Acoramidis IC_{50} (µM)	Control Inhibitor	Control Inhibitor IC_{50} (µM)
CYP1A2	Tacrine	5	> 50	Furafylline	6.277
CYP2B6	Bupropion	200	> 50	Ticlopidine	0.142
CYP2C8	Paclitaxel	5	> 50	Quercetin	0.767
CYP2C9	Tolbutamide	200	> 50	Sulfaphenazole	0.235
CYP2C19	S-Mephenytoin	35	> 50	Tranylcypromine	4.32
CYP2D6	Bufuralol	10	> 50	Quinidine	0.05
CYP3A4	Midazolam	5	> 50	Ketoconazole	0.016
CYP3A4	Testosterone	30	> 50	Ketoconazole	0.013

Table 44: Evaluation of Direct, Time-Dependent, and Metabolism-Dependent CYP Inhibition by Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]5062
Test Article: Acoramidis
Study System: Pooled human liver microsomes
Target entity, Test system, and Method: Pooled human liver microsomes were incubated for 5 min at 37°C with probe substrates in the absence or presence of acoramidis (concentration range from 1.1 to 1100 µM for CYP3A4/5 assays and 0.15 to 150 µM for all other CYP assays) or reference inhibitors. Reactions were initiated by the addition of 1 mM NADPH and terminated by the addition of acetonitrile, and probe substrate metabolites quantified by LC-MS/MS. To evaluate metabolism-dependent inhibition, acoramidis was preincubated for 30 min with the microsomes and NADPH. To evaluate time-dependent inhibition, acoramidis was preincubated for 30 min with the microsomes without NADPH.

CYP Isoform	Probe Substrate	Substrate Concentration (µM)	Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition[c]		Inhibition Potential Conclusion
			Zero-min preincubation		30-min preincubation without NADPH		30-min preincubation with NADPH		
			IC_{50} (µM)[a]	Maximum inhibition (%)[b]	IC_{50} (µM)[a]	Maximum inhibition (%)[b]	IC_{50} ± SE[a] (µM)	Maximum inhibition (%)[b]	
CYP1A2	Phenacetin	90	> 150	5.9	> 150	2.8	> 150	7.3	None
CYP2B6	Efavirenz	5	> 150	8.9	> 150	1.6	> 150	7.4	None
CYP2C8	Amodiaquine	2	> 150	36	> 150	28	76 ± 6	64	Direct[d], Metabolism-dependent
CYP2C9	Diclofenac	12	> 150	4.5	> 150	NA	100 ± 20	53	Metabolism-dependent
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	60	> 150	8.3	> 150	6.4	> 150	13	None
CYP2D6	Dextromethorphan	10	> 150	8.1	> 150	2.5	> 150	8.9	None
CYP3A4/5	Midazolam	3	> 1100	12	> 1100	12	> 1100	16	None
CYP3A4/5	Testosterone	60	> 1100	18	> 1100	16	> 1100	24	None

Abbreviations: NA = Not applicable; No value was obtained as the rates at the highest concentration of AG10 evaluated (150 µM) were higher than the control rates, SE = Standard error (where applicable)

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

[b] Inhibition observed (%) is calculated with the following formula for the concentration of inhibitor demonstrating the most inhibition (results are rounded to two significant figures): Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

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

[d] Since as much as 20% variability may be observed due to sample analysis, a test article is described as a direct inhibitor of a CYP enzyme if the maximal inhibition observed is > 20%.

Table 45: Evaluation of Metabolism-Dependent CYP Inhibition by Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]5062
Test Article: Acoramidis
Study System: Pooled human liver microsomes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis (at concentrations of 0, 5, 15, 30, 80, 150 µM for CYP2C8, and at concentrations of 0, 30, 200, 400, 600, 800 µM for CYP2C9) was preincubated in duplicate with pooled human liver microsomes at approximately 0.25 mg/mL and an NADPH-regenerating system for zero, 3, 6, 9, 15 and 30 min. After the preincubation, an aliquot of the preincubation mixture (20 µL) was transferred to a second tube containing the probe substrate, at approximately 8.2 times its K_m for CYP2C8 and 9.7 times its K_m for CYP2C9, respectively, and an NADPH-regenerating system (final volume of 200 µL) resulting in a 10-fold dilution of the inhibitor to minimize the direct inhibitory effects of the test article and a 10-fold dilution of the microsomes. The incubation was then continued for 5 min to allow formation of any metabolites of the probe substrate. The residual CYP2C8 and CYP2C9 activities were measured.

CYP Isoform	Probe Substrate	Substrate Conc. (µM)	K_I (µM)	K_{inact} (min^{-1})	K_{inact}/K_I (min^{-1} mM^{-1})
CYP2C8	Amodiaquine	20	39 ± 11	0.033 ± 0.003	0.85
CYP2C9	Diclofenac	120	210 ± 10	0.049 ± 0.001	0.23

Table 46: Evaluation of Direct UGT Inhibition in Microsomes by Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]5022
Test Article: Acoramidis
Study System: Pooled human liver microsomes
Target entity, Test system, and Method: Pooled human liver microsomes were incubated for 5 to 10 min at 37°C with probe substrates in the absence or presence of acoramidis (concentration range from 0.200-200 µM) or reference inhibitors. Reactions were initiated by the addition of 10 mM UDPGA and terminated by the addition of acetonitrile, and probe substrate metabolites quantified by LC-MS/MS.

UGT Isoform	Probe Substrate	Substrate Conc. (µM)	Acoramidis IC_{50} ± SE[a] (µM)	Acoramidis Maximum % Inhibition[b]	Control Inhibitor	% Inhibition
UGT1A1	17β-Estradiol	12	> 200	35	12 µM Troglitazone	73.8
UGT1A3	Chenodeoxycholic acid	160	> 200	3.9	100 µM Troglitazone	87.0
UGT1A4	Trifluoperazine	20	> 200	17	3 µM Troglitazone	81.9
UGT1A6	1-Naphthol	2	> 200	11	20 µM Troglitazone	67.7
UGT1A9	Propofol	16	150 ± 10	63	20 µM Troglitazone	87.3
UGT2B7	Morphine	400	> 200	21	100 µM Troglitazone	86.6
UGT2B15	Oxazepam	100	> 200	14	50 µM Troglitazone	61.9

Abbreviations: SE = Standard error

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

[b] Maximum inhibition observed (%) is calculated with the following formula for the concentration of inhibitor demonstrating the most inhibition (results are rounded to two significant figures):

Maximum inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

Table 47: Evaluation of Direct Recombinant UGT Inhibition by Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]5073
Test Article: Acoramidis
Study System: Recombinant human UGT enzymes
Target entity, Test system, and Method: Recombinant (r) human UGT enzymes were incubated for 5 to 10 min at 37°C with probe substrates in the absence or presence of acoramidis (concentration range from 0.150-150 µM) or reference inhibitors. Reactions were initiated by the addition of 10 mM UDPGA and terminated by the addition of acetonitrile, and probe substrate metabolites quantified by LC-MS/MS.

Enzyme	Probe Substrate	Substrate Conc. (µM)	Acoramidis IC_{50} ±SE[a] (µM)	Acoramidis Maximum % Inhibition[b]	Control Inhibitor	% Inhibition
rUGT1A1	17β-Estradiol	12	> 150	30	12 µM Troglitazone	88.8
rUGT1A3	Chenodeoxycholic acid	25	> 150	4.2	100 µM Troglitazone	100.0
rUGT1A4	Trifluoperazine	11	> 150	4.7	3 µM Troglitazone	100
rUGT1A6	1-Naphthol	2.5	> 150	10	20 µM Troglitazone	85.6
rUGT1A9	Propofol	6	40 ± 2	78	20 µM Troglitazone	97.4
rUGT2B7	Morphine	300	> 150	25	100 µM Troglitazone	100
rUGT2B15	Oxazepam	15	> 150	15	50 µM Troglitazone	100

Abbreviations: SE = Standard error (where applicable)
[a] Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values.
[b] Inhibition observed (%) is calculated with the following formula for the concentration of inhibitor demonstrating the most inhibition (results are rounded to two significant figures):
Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

13 薬物動態試験：排泄

Table 48: Mass Balance Study in Rats After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study	8355837
Species	Rat, Sprague Dawley
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3, F/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.191

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose			
		Male		Female	
		Incremental	Cumulative	Incremental	Cumulative
Urine	0-8	2.17 ± 0.703	2.17 ± 0.703	3.59 ± 1.10	3.59 ± 1.10
	8-24	4.74 ± 0.486	6.91 ± 0.763	7.10 ± 0.925	10.7 ± 1.97
	24-48	7.41 ± 2.30	14.3 ± 2.82	10.9 ± 2.79	21.6 ± 2.11
	48-72	1.67 ± 0.699	16.0 ± 3.23	2.75 ± 2.19	24.3 ± 4.09
	72-96	0.197 ± 0.0536	16.2 ± 3.27	0.347 ± 0.369	24.7 ± 4.46
	96-120	0.0681 ± 0.00982	16.3 ±3.27	0.0724 ± 0.0638	24.7 ± 4.52
	120-144	0.0210 ± 0.00738	16.3 ± 3.28	0.0552 ± 0.039	24.8 ± 4.52
	144-168	0.0282 ± 0.0124	16.3 ± 3.28	0.0302 ± 0.0135	24.8 ± 4.52
	Subtotal	16.3 ± 3.28	NA	24.8 ± 4.52	NA
Feces	0-24	32.2 ± 6.22	32.2 ± 6.22	16.2 ± 5.28	16.2 ± 5.28
	24-48	37.9 ± 3.24	70.2 ± 4.30	40.9 ± 7.74	57.1 ± 12.8
	48-72	7.65 ± 2.46	77.8 ± 1.92	12.6 ± 7.20	69.7 ± 6.67
	72-96	1.04 ± 0.137	78.9 ± 1.86	1.72 ± 1.62	71.4 ± 5.06
	96-120	0.129 ± 0.0307	79.0 ± 1.88	0.218 ± 0.267	71.7 ± 4.80
	120-144	0.0329 ± 0.0058	79.0 ± 1.88	0.0211 ± 0.0117	71.7 ± 4.79
	144-168	0.0149 ± 0.0132	79.0 ± 1.89	0.0193 ± 0.0119	71.7 ± 4.78
	Subtotal	79.0 ± 1.89	NA	71.7 ± 4.78	NA
Cage Rinse	0-24	0.486 ± 0.181	0.486 ± 0.181	0.429 ± 0.200	0.429 ± 0.200
	24-48	0.442 ± 0.120	0.928 ± 0.265	0.475 ± 0.277	0.904 ± 0.419
	48-72	0.102 ± 0.0264	1.03 ± 0.271	0.128 ± 0.0756	1.03 ± 0.495
	72-96	0.0429 ± 0.0304	1.07 ± 0.302	0.0389 ± 0.0302	1.07 ± 0.524
	96-120	0.0179 ± 0.0114	1.09 ± 0.310	0.0186 ± 0.0164	1.09 ± 0.533
	120-144	0.0160 ± 0.00817	1.11 ± 0.318	0.0259 ± 0.00771	1.12 ± 0.528
	Subtotal	1.11 ± 0.318	NA	1.12 ± 0.528	NA

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose			
		Male		Female	
		Incremental	Cumulative	Incremental	Cumulative
Cage Wash	0-168	0.336 ± 0.355	NA	0.140 ± 0.0361	NA
	Subtotal	0.336 ± 0.355	NA	0.140 ± 0.0361	NA
Cage Wipe	0-168	0.643 ± 0.728	NA	0.420 ± 0.0998	NA
	Subtotal	0.643 ± 0.728	NA	0.420 ± 0.0998	NA
Carcass	0-168	0.129 ± 0.00984	NA	0.287 ± 0.0846	NA
	Subtotal	0.129 ± 0.00984	NA	0.287 ± 0.0846	NA
	Total	97.6 ± 1.42	NA	98.5 ± 0.650	NA

Table 49: Mass Balance Study in Dogs After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study	8355830
Species	Dog, Beagle
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3, F/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	250 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (µCi/mg)	0.297

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose			
		Male		Female	
		Incremental	Cumulative	Incremental	Cumulative
Urine	0-4	10.2 ± 17.6	10.2 ± 17.6	0.0532 ± 0.0921	0.0532 ± 0.0921
	0-8	0.00	10.2 ± 17.6	0.00	0.0532 ± 0.0921
	8-24	18.2 ± 4.43	28.4 ± 14.7	21.7 ± 4.42	21.7 ± 4.51
	24-48	5.17 ± 1.81	33.5 ± 13.9	4.53 ± 2.89	26.2 ± 3.79
	48-72	0.517 ± 0.403	34.1 ± 13.6	0.644 ± 0.145	26.9 ± 3.90
	72-96	0.149 ± 0.0829	34.2 ± 13.5	0.676 ± 0.890	27.6 ± 4.35
	96-120	0.0909 ± 0.0563	34.3 ± 13.5	0.131 ± 0.0414	27.7 ± 4.39
	120-144	0.0521 ± 0.0254	34.4 ± 13.4	0.0741 ± 0.048	27.8 ± 4.41
	144-168	0.0412 ± 0.0213	34.4 ± 13.4	0.0478 ± 0.0391	27.8 ± 4.43
	Subtotal	34.4 ± 13.4		27.8 ± 4.43	
Feces	0-24	4.42 ± 4.61	4.42 ± 4.61	4.96 ± 8.59	4.96 ± 8.59
	24-48	44.5 ± 12.2	49.0 ± 15.2	50.8 ± 17.0	55.8 ± 13.8
	48-72	1.28 ± 0.170	50.2 ± 15.3	8.53 ± 9.94	64.3 ± 7.15
	72-96	0.521 ± 0.317	50.8 ± 15.4	1.34 ± 1.91	65.6 ± 6.87
	96-120	0.108 ± 0.0986	50.9 ± 15.5	0.231 ± 0.237	65.9 ± 6.83
	120-144	0.0941 ± 0.107	51.0 ± 15.5	0.0907 ± 0.0681	66.0 ± 6.82
	144-168	0.0475 ± 0.0424	51.0 ± 15.6	0.0208 ± 0.00751	66.0 ± 6.82
	Subtotal	51.0 ± 15.6		66.0 ± 6.82	
Cage Debris	0-168	0.554 ± 0.279		0.773 ± 0.647	
	Subtotal	0.554 ± 0.279		0.773 ± 0.647	
Cage Rinse	0-24	2.22 ± 1.59	2.22 ± 1.59	1.66 ± 1.16	1.66 ± 1.16
	24-48	0.873 ± 0.445	3.09 ± 2.04	0.275 ± 0.120	1.93 ± 1.16
	48-72	0.713 ± 0.795	3.80 ± 2.82	0.289 ± 0.165	2.22 ± 1.31
	72-96	0.264 ± 0.165	4.07 ± 2.97	0.334 ± 0.249	2.56 ± 1.56

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose			
		Male		Female	
		Incremental	Cumulative	Incremental	Cumulative
	96-120	0.151 ± 0.0692	4.22 ± 3.04	0.190 ± 0.224	2.75 ± 1.78
	120-144	0.0894 ± 0.0512	4.31 ± 3.09	0.144 ± 0.152	2.89 ± 1.93
	Subtotal	4.31 ± 3.09		2.89 ± 1.93	
Cage Wash	0-168	0.129 ± 0.0449		0.105 ± 0.119	
	Subtotal	0.129 ± 0.0449		0.105 ± 0.119	
Cage Wipe	0-168	0.901 ± 0.919		0.527 ± 0.831	
	Subtotal	0.901 ± 0.919		0.527 ± 0.831	
Urine Wipe	0-96	0.00685 ± 0.0119			
	Subtotal	0.00685 ± 0.0119			
Vomitus/ Emesis	0-6	3.98 ± 6.89			
	Subtotal	3.98 ± 6.89			
	Total	95.3 ± 1.70		98.1 ± 0.882	

14 薬物動態試験：胆汁中排泄

Table 50: Mass Balance Study in Bile-Duct Cannulated Rats After a Single Oral Dose of [^{14}C]-Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study	8355837
Species	Rat, Sprague Dawley, bile-duct cannulated
Gender (M/F)/No. of Animals	M/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% Methylcellulose 400 cps in water
Method of Administration	Oral (gavage)
Dose (mg/kg)	1000 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Specific Activity (μCi/mg)	0.191

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose	
		Incremental	Cumulative
Urine	0-4	0.717 ± 0.535	0.717 ± 0.535
	4-8	3.58 ± 1.33	4.30 ± 1.24
	8-24	2.89 ± 0.937	7.19 ± 2.05
	24-48	2.37 ± 0.339	9.56 ± 2.13
	48-72	0.157 ± 0.0310	9.72 ± 2.10
	72-96	0.0570 ± 0.0143	9.77 ± 2.11
	96-120	0.0157 ± 0.00699	9.79 ± 2.10
	Subtotal	9.79 ± 2.10	
Feces	0-24	2.08 ± 0.568	2.08 ± 0.568
	24-48	3.25 ± 0.646	5.33 ± 1.06
	48-72	0.627 ± 0.265	5.95 ± 0.799
	72-96	0.0251 ± 0.00715	5.98 ± 0.806
	96-120	0.00531 ± 0.00919	5.98 ± 0.808
	Subtotal	5.98 ± 0.808	
Cage Rinse	0-24	0.268 ± 0.0187	0.268 ± 0.0187
	24-48	0.104 ± 0.0423	0.372 ± 0.0607
	48-72	0.0323 ± 0.0198	0.404 ± 0.0789
	72-96	0.00371 ± 0.000424	0.408 ± 0.0787
	Subtotal	0.408 ± 0.0787	
Cage Wash	0-120	0.108 ± 0.0337	
	Subtotal	0.108 ± 0.0337	
Cage Wipe	0-120	0.316 ± 0.323	
	Subtotal	0.316 ± 0.323	
Bile	0-2	5.03 ± 1.03	5.03 ± 1.03

Sample	Time Point (hr)	Mean Percent of Radioactive Dose	
		Incremental	Cumulative
	2-4	6.58 ± 1.04	11.6 ± 1.46
	4-8	11.8 ± 1.97	23.4 ± 3.31
	8-24	29.8 ± 6.31	53.2 ± 9.61
	24-48	26.9 ± 11.6	80.2 ± 3.10
	48-72	0.351 ± 0.163	80.5 ± 2.94
	72-96	0.0158± 0.0139	80.5 ± 2.94
	96-120	0.00367 ± 0.00636	80.5 ± 2.95
	Subtotal	80.5 ± 2.95	
Bile cannula	0-120	0.00216 ± 0.00193	
	Subtotal	0.00216 ± 0.00193	
Jacket Rinse	0-120	0.00	
	Subtotal	0.00	
Carcass	0-120	0.141 ± 0.0138	
	Subtotal	0.141 ± 0.0138	
	Total	97.3 ± 1.46	

15 薬物動態試験：薬物相互作用

Table 51: Effect of Omeprazole and Pentagastrin on the Pharmacokinetics of Acoramidis in Dogs

Test article: Acoramidis

Study	20[redacted]9305		
Species	Dog, Beagle		
Feeding Condition	Fasted		
Analyte	Acoramidis		
Sample	K2-EDTA plasma		
Assay	LC-MS/MS		
Vehicle/Formulation	Tablet, 200 mg		
Gender (M/F)/No. of Animals	M/4	M/4	M/4
Treatment	Vehicle for pentagastrin	Pentagastrin 0.006 mg/kg	Omeprazole 20 mg
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
PK Parameters			
C_{max} (μg/mL)	11.4 ± 2.28	10.1 ± 3.92	11.5 ± 3.85
T_{max} (hr)	1.00 ± 0	1.25 ± 0.500	1.00 ± 0
$AUC_{0\text{-}inf}$ (μg*hr/mL)	78.4 ± 3.92	74.9 ± 19.9	72.2 ± 8.14

Table 52: Biotransformation of Acoramidis with Recombinant Human UGT Enzymes

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]4016
Test Article: Acoramidis
Study System: Recombinant UGT enzymes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis, at 1 and 10 µM, was incubated in triplicate with recombinant UGT enzymes at ca. 37°C for 1 hr. After termination of the reaction by protein precipitation, samples were analyzed by LC-MS/MS.

Test System	Incubation Time (min)	Acoramidis (1 µM)		Acoramidis (10 µM)	
		Substrate Loss (%)	Substrate Remaining (%)	Substrate Loss (%)	Substrate Remaining (%)
Control microsomes[a]	0	NA	100	NA	100
	60	No loss	102	No loss	104
rUGT1A1	0	NA	100	NA	100
	60	6.6	93.4	6.5	93.5
rUGT1A3	0	NA	100	NA	100
	60	No loss	103	No loss	102
rUGT1A4	0	NA	100	NA	100
	60	5.2	94.8	3.3	96.7
rUGT1A6	0	NA	100	NA	100
	60	No loss	100	No loss	102
rUGT1A9	0	NA	100	NA	100
	60	21.2	78.8	18.9	81.1
rUGT2B7	0	NA	100	NA	100
	60	7.9 [b]	92.1[b]	10.2	89.8
rUGT2B10	0	NA	100	NA	100
	60	No loss	100	0.8	99.2
rUGT2B15	0	NA	100	NA	100
	60	3.7	96.3	1.0	99.0

Abbreviations: NA = Not applicable
Note: No loss = Value was negative or zero.
[a] Supersomes™ insect cell control microsomes (negative control).
[b] Value is the mean of duplicate determinations due to exclusion of outlier.

Table 53: Formation of Acoramidis Acylglucuronide by Recombinant Human UGT Enzymes

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]4016
Test Article: Acoramidis
Study System: Recombinant UGT enzymes
Target entity, Test system, and Method: Acoramidis, at 1 and 10 µM, was incubated in triplicate with recombinant UGT enzymes at ca. 37°C for 1 hr. After termination of the reaction by protein precipitation, samples were analyzed by LC-MS/MS.

Test System	Incubation Time (min)	Acoramidis (1 µM)		Acoramidis (10 µM)	
		Mean[a] Metabolite Formed per Incubation (pmol)	Mean[a] Rate of Metabolite Formation (pmol/min/mg)	Mean[a] Metabolite Formed per Incubation (pmol)	Mean[a] Rate of Metabolite Formation (pmol/min/mg)
Control microsomes[b]	0	ND	NC	ND	NC
	60	ND	NC	ND	NC
rUGT1A1	0	ND	NC	ND	NC
	60	16.6	1.38	149	12.4
rUGT1A3	0	ND	NC	ND	NC
	60	1.46	0.121	11.2	0.934
rUGT1A4	0	ND	NC	ND	NC
	60	4.92	0.410	48.9	4.07
rUGT1A6	0	ND	NC	ND	NC
	60	ND	NC	3.95	0.329
rUGT1A9	0	ND	NC	ND	NC
	60	59.9	4.99	467	38.9
rUGT2B7	0	ND	NC	ND	NC
	60	30.0 [c]	2.50 [c]	286	23.8
rUGT2B10	0	ND	NC	ND	NC
	60	ND	NC	1.13 [d]	0.0940 [d]
rUGT2B15	0	ND	NC	ND	NC
	60	ND	NC	2.27	0.189

Abbreviations: NC = Not calculated, ND = Not detected
[a] Unless otherwise noted, values are mean of triplicate determinations rounded to three significant figures.
[b] Supersomes™ insect cell control microsomes (negative control).
[c] Value is the mean of duplicate determinations due to exclusion of outlier.
[d] Value is based on single determination due to other replicates being BLQ (below limit of quantitation).

Table 54: Permeability and Transport of Acoramidis in Caco-2 Cells

Test article: Acoramidis

Study No.: 20[redacted]0810-E005-01
Test Article: Acoramidis
Study System: Caco-2 cells
Target entity, Test system, and Method: Bi-directional transport in Caco-2 cells was conducted in HBSS, pH 7.4. Compounds were added to apical or basal side and assay plates were incubated at 37ºC in a humidified incubator with 5% CO2 for 1 hour. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were precipitated with acetonitrile and samples analyzed by LC-MS/MS.

Compound	Concentration (µM)	$P_{app, A-B}$ (x 10-6 cm/sec)	$P_{app, B-A}$ (x 10-6 cm/sec)	Efflux Ratio (B-A/A-B)	Recovery (%)
Digoxin	5	0.25 ± 0.03	8.30 ± 0.33	33.7	99.7
Propranolol	5	20.5 ± 0.25	14.7 ± 0.39	0.72	92.5
Acoramidis	1	0.04 ± 0.01	17.0 ± 0.20	421	101
	10	0.04 ± 0.00	14.0 ± 0.41	347	101
	50	0.07 ± 0.01	12.0 ± 0.33	181	99.6

Table 55: Inhibitory Potential of Acoramidis on the Activity of P-glycoprotein in Caco-2 Cells

Test article: Acoramidis

Study No.: EIDOS-20[redacted]0921-CAPGPI
Test Article: Acoramidis
Study System: Caco-2 cells
Target entity, Test system, and Method: Caco-2 cells at passage number 36 were seeded on 96-well transport inserts and cultured for 24 days before being used. The bi-directional permeability and efflux ratios of digoxin, a known P-gp substrate, in the absence or presence of acoramidis at eight concentrations were determined. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were precipitated with acetonitrile and samples analyzed by LC-MS/MS.

Sample ID	Direction	Conc. of Digoxin in Receiver Sample (nM)[a]	Efflux Ratio	%P-gp Activity
Vehicle	A to B	1.00 ± 0	183	100
	B to A	611 ± 130		
Acoramidis (100 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	173	94.3
	B to A	576 ± 54.7		
Acoramidis (33.3 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	221	121
	B to A	736[a]		
Acoramidis (11.1 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	150	82.0
	B to A	500[a]		
Acoramidis (3.70 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	152	82.9
	B to A	506[a]		
Acoramidis (1.23 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	171	93.4
	B to A	570 ± 52.9		
Acoramidis (0.41 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	210	115
	B to A	701 ± 127		
Acoramidis (0.14 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	166	90.4
	B to A	552 ± 68.1		
Acoramidis (0.05 µM)	A to B	1.00 ± 0.00	178	97.2
	B to A	593 ± 94.7		

[a] Values are Mean and SD of 3 replicates except for those marked which are a mean of 2 replicates.

Table 56: OAT1 and OAT3 Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OAT1 or OAT3
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OAT1 or OAT3 were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-p-aminohippurate for OAT1 or [3H]-estrone-3-sulfate for OAT3), or reference inhibitor (probenecid) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[a]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[a]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[a]	Inhibition (%)[a]
OAT1	2 µM PAH	2.17 ± 0.302	0.0267 ± 0.0103	2.14 ± 0.302	-
	2 µM PAH + 100 µM probenecid	0.251 ± 0.0143	0.0404 ± 0.00594	0.210 ± 0.0143	90.2 ± 0.669
	0.3 µM Acoramidis	0.303 ± 0.0757	0.163 ± 0.0577	0.141 ± 0.0757	-
	3 µM Acoramidis	2.30 ± 0.207	0.162 ± 0.0146	2.14 ± 0.207	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM probenecid	0.529 ± 0.368	0.262 ± 0.0376	0.267 ± 0.368	87.5 ± 17.2
	30 µM Acoramidis	6.52 ± 0.994	1.06 ± NA	5.46 ± 0.994	-
OAT3	0.1 µM E3S	0.222 ± 0.0292	0.0418 ± 0.00403	0.181 ± 0.0292	-
	0.1 µM E3S + 100 µM probenecid	0.053 ± 0.0044	0.0379 ± 0.00332	0.0152 ± 0.0044	91.6 ± 2.46
	0.3 µM Acoramidis	0.126 ± 0.0143	0.155 ± 0.0403	-0.0286 ± 0.0143	-
	3 µM Acoramidis	0.223 ± 0.0311	0.237 ± 0.0442	-0.0142 ± 0.0311	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM probenecid	0.237 ± 0.0170	0.285 ± 0.0531	-0.0486 ± 0.0170	ND
	30 µM Acoramidis	1.49 ± 0.150	1.40 ± 0.134	0.0919 ± 0.150	-

Abbreviations: NA = not available, one of the triplicates was excluded by the Grubb Test, ND = not determined due to lack of inhibition
[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 57: OCT1 and OCT2 Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OCT1 or OCT2
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OCT1 or OCT2 were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-MPP+ for OCT1 or [^{14}C]-metformin for OCT2), or reference inhibitor (quinidine) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[a]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[a]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[a]	Inhibition (%)[a]
OCT1	2 µM MPP+	9.08 ± 1.13	0.519 ± 0.0927	8.56 ± 1.13	-
	2 µM MPP+ + 1000 µM quinidine	1.12 ± 0.102	0.836 ± 0.0647	0.288 ± 0.102	96.6 ± 1.19
	0.3 µM Acoramidis	0.0435 ± 0.0445	0.218 ± 0.157	-0.175 ± 0.0445	-
	3 µM Acoramidis	0.151 ± 0.0329	0.422 ± 0.158	-0.271 ± 0.0329	-
	3 µM Acoramidis + 1000 µM quinidine	0.0335 ± NA	0.0758 ± NA	-0.0423 ± NA	ND
	30 µM Acoramidis	1.09 ± 0.162	1.35 ± 0.308	-0.267 ± 0.162	-
OCT2	10 µM metformin	4.24 ± 0.197	0.141 ± 0.0224	4.09 ± 0.197	-
	10 µM metformin + 1000 µM quinidine	0.705 ± 0.0697	0.557 ± 0.044	0.149 ± 0.0697	96.4 ± 1.70
	0.3 µM Acoramidis	0.0361 ± 0.0071	0.062 ± 0.0334	-0.0263 ± 0.00710	-
	3 µM Acoramidis	0.136 ± 0.00204	0.221 ± 0.0657	-0.0853 ± 0.00204	-
	3 µM Acoramidis + 1000 µM quinidine	0.250 ± 0.184	0.234 ± 0.169	0.0159 ± 0.184	ND
	30 µM Acoramidis	1.27 ± 0.202	0.930 ± 0.520	0.343 ± 0.202	-

Abbreviations: NA = not available, one of the triplicates was excluded by the Grubb Test, ND = not determined due to lack of inhibition
[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 58: OATP1B1 and OATP1B3 Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OATP1B1 or OATP1B3
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OATP1B1 or OATP1B3 were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-estradiol-17β-D-glucuronide for OATP1B1 or [3H]-CCK-8 for OATP1B3), or reference inhibitor (rifampicin) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[a]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[a]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[a]	Inhibition (%)[a]
OATP1B1	2 µM E17bGlu	2.43 ± 0.215	0.114 ± 0.00892	2.32 ± 0.215	-
	2 µM E17bGlu + 100 µM rifampicin	0.132 ± 0.0172	0.142 ± 0.0149	-0.0100 ± 0.0172	100.0 ± 0.743
	0.3 µM Acoramidis	0.0397 ± 0.0334	0.0402 ± 0.0099	-0.000563 ± 0.0334	-
	3 µM Acoramidis	0.237 ± 0.0843	0.392 ± 0.165	-0.155 ± 0.0843	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM rifampicin	0.224 ± 0.0429	0.289 ± 0.0270	-0.0653 ± 0.0429	ND
	30 µM Acoramidis	2.11 ± 0.135	1.80 ± 0.165	0.310 ± 0.135	-
OATP1B3	2 µM CCK8	1.40 ± 0.132	0.0480 ± 0.00613	1.35 ± 0.132	-
	2 µM CCK8 + 100 µM rifampicin	0.0613 ± 0.0103	0.0320 ± 0.00307	0.0293 ± 0.0103	97.8 ± 0.761
	0.3 µM Acoramidis	0.0420 ± 0.0116	0.0934 ± 0.0496	-0.0514 ± 0.0116	-
	3 µM Acoramidis	0.183 ± 0.0104	0.178 ± 0.0100	0.00489 ± 0.0104	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM rifampicin	0.183 ± 0.0100	0.251 ± 0.00549	-0.0674 ± 0.0100	ND
	30 µM Acoramidis	1.55 ± 0.146	1.58 ± 0.0898	-0.0281 ± 0.146	-

Abbreviations: ND = not determined due to lack of inhibition
[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 59: MATE1 and MATE2-K Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human MATE1 or MATE2-K
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human MATE1 or MATE2-K were incubated with acoramidis, probe substrate ([^{14}C]-metformin), or reference inhibitor (cimetidine) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[a]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[a]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[a]	Inhibition (%)[a]
MATE1	10 µM metformin	9.94 ± 1.20	0.155 ± 0.0248	9.78 ± 1.20	-
	10 µM metformin + 100 µM cimetidine	0.150 ± 0.0349	0.0832 ± 0.0143	0.0672 ± 0.0349	99.3 ± 0.357
	0.3 µM Acoramidis	0.00793 ± 0.00287	0.00444 ± 0.000979	0.00349 ± 0.00287	-
	3 µM Acoramidis	0.116 ± 0.0322	0.0804 ± 0.0166	0.0356 ± 0.0322	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM cimetidine	0.0646 ± 0.00747	0.0847 ± 0.00356	-0.0201 ± 0.00747	ND
	30 µM Acoramidis	0.639 ± 0.0841	0.827 ± 0.250	-0.188 ± 0.0841	-
MATE2-K	10 µM metformin	1.57 ± 0.158	0.165 ± 0.00847	1.41 ± 0.158	-
	10 µM metformin + 100 µM cimetidine	0.167 ± 0.0216	0.107 ± 0.0369	0.0599 ± 0.0216	95.7 ± 1.53
	0.3 µM Acoramidis	0.00748 ± 0.000800	0.00534 ± 0.00103	0.00214 ± 0.000800	-
	3 µM Acoramidis	0.120 ± 0.0323	0.101 ± 0.0198	0.0196 ± 0.0323	-
	3 µM Acoramidis + 100 µM cimetidine	0.0806 ± 0.00783	0.0833 ± 0.00851	-0.00267 ± 0.00783	ND
	30 µM Acoramidis	1.02 ± 0.253	0.961 ± 0.192	0.0622 ± 0.253	-

Abbreviations: ND = not determined due to lack of inhibition

[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 60: BCRP Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human BCRP
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human BCRP were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-prazosin), or reference inhibitor (Ko143) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 90 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter Cell Type	Condition	P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s)[a]		Vectorial Net Transport (B→A)-(A→B)[a] (pmoles/min/cm^2)	Efflux Ratio (ER)[a]	% Inhibition (Based on ER)[a]
		(B→A)	(A→B)			
BCRP Cells	2 µM prazosin	42.4 ± 1.31	3.44 ± 0.327	6.67 ± 0.223	12.4 ± 0.380	-
	2 µM prazosin + 1 µM Ko143	16.3 ± 1.39	12.9 ± 2.31	0.566 ± 0.238	1.26 ± 0.108	97.7 ± 0.947
	0.3 µM Acoramidis	14.6 ± 1.81	0.639 ± NA	0.190 ± 0.0247	22.9 ± 2.84	-
	3 µM Acoramidis	10.1 ± 0.546	0.963 ± 0.108	1.16 ± 0.0694	10.5 ± 0.567	-
	3 µM Acoramidis + 1 µM Ko143	4.07 ± 0.857	3.27 ± 0.177	0.107 ± 0.116	1.24 ± 0.262	97.4 ± 2.77
	30 µM Acoramidis	7.34 ± 4.36	1.03 ± 0.447	8.01 ± 5.54	7.09 ± 4.21	-
Control cells	2 µM prazosin	20.4 ± 2.16	11.0 ± 2.11	1.61 ± 0.369	1.86 ± 0.196	-
	2 µM prazosin + 1 µM Ko143	16.3 ± 1.85	12.4 ± 2.83	0.661 ± 0.315	1.31 ± 0.148	-
	0.3 µM Acoramidis	2.99 ± 1.09	2.09 ± 0.179	0.0123 ± 0.0148	1.43 ± 0.521	-
	3 µM Acoramidis	2.10 ± 0.286	2.32 ± 0.188	-0.0280 ± 0.0363	0.905 ± 0.123	-
	3 µM Acoramidis + 1 µM Ko143	3.10 ± NA	2.75 ± 0.366	0.0467 ± NA	1.13 ± NA	ND
	30 µM Acoramidis	1.32 ± NA	1.98 ± 0.121	-0.836 ± NA	0.668 ± NA	-
Transporter Cell Type	Condition		ER BCRP Cells[a]	ER Control Cells[a]	Net Efflux Ratio ER (BCRP)/Mean ER (Control)[a]	% Inhibition (Based on Net ER)[a]
Net	2 µM prazosin		12.4 ± 0.380	1.86 ± 0.196	6.65 ± 0.204	-
	2 µM prazosin + 1 µM Ko143		1.26 ± 0.108	1.31 ± 0.148	0.958 ± 0.0820	101 ± 1.45
	0.3 µM Acoramidis		22.9 ± 2.84	1.43 ± 0.521	16.0 ± 1.98	-
	3 µM Acoramidis		10.5 ± 0.567	0.91 ± 0.123	11.6 ± 0.627	-
	3 µM Acoramidis + 1 µM Ko143		1.24 ± 0.262	1.13 ± NA	1.10 ± 0.233	99.0 ± 2.20
	30 µM Acoramidis		7.09 ± 4.21	0.668 ± NA	10.6 ± 6.31	-

Abbreviations: NA = not available, one of the triplicates was excluded by the Grubb Test, ND = not determined due to lack of inhibition
[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 61: P-gp Substrate Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human P-gp (MDCK-MDR1)
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human P-gp were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-quinidine), or reference inhibitor (elacridar) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 90 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter Cell Type	Condition	P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s)[a]		Vectorial Net Transport (B→A)-(A→B)[a] ($pmoles/min/cm^2$)	Efflux Ratio (ER)[a]	% Inhibition (Based on ER)[a]
		(B→A)	(A→B)			
P-gp Cells	0.1 µM quinidine	70.8 ± 2.53	2.18 ± 0.226	0.586 ± 0.0216	32.4 ± 1.16	-
	0.1 µM quinidine + 3 µM elacridar	21.9 ± 1.06	10.1 ± 0.529	0.101 ± 0.0091	2.17 ± 0.105	96.3 ± 0.336
	0.3 µM Acoramidis	2.86 ± 0.459	1.69 ± 0.203	0.0149 ± 0.0058	1.70 ± 0.272	-
	3 µM Acoramidis	2.84 ± NA	1.85 ± 0.170	0.127 ± NA	1.53 ± NA	-
	3 µM Acoramidis + 3 µM elacridar	3.73 ± 1.28	2.20 ± 0.409	0.194 ± 0.162	1.69 ± 0.579	ND
	30 µM Acoramidis	2.38 ± 0.338	1.72 ± 0.508	0.809 ± 0.417	1.38 ± 0.196	-
Control cells	0.1 µM quinidine	26.0 ± 5.04	9.38 ± 1.87	0.142 ± 0.0431	2.77 ± 0.537	-
	0.1 µM quinidine + 3 µM elacridar	21.9 ± 2.04	12.4 ± 1.53	0.0812 ± 0.0175	1.77 ± 0.165	ND
	0.3 µM Acoramidis	2.81 ± 0.873	2.35 ± 0.039	0.00580 ± 0.0110	1.20 ± 0.371	-
	3 µM Acoramidis	1.60 ± 0.144	2.08 ± 0.203	-0.0617 ± 0.0186	0.770 ± 0.0694	-
	3 µM Acoramidis + 3 µM elacridar	2.63 ± 0.308	2.59 ± 0.274	0.00597 ± 0.0391	1.02 ± 0.119	ND
	30 µM Acoramidis	2.02 ± 0.692	2.46 ± 0.564	-0.545 ± 0.853	0.820 ± 0.281	-
Transporter Cell Type	Condition		ER P-gp Cells[a]	ER Control Cells[a]	Net Efflux Ratio ER (BCRP)/Mean ER (Control)[a]	% Inhibition (Based on Net ER)[a]
Net	0.1 µM quinidine		32.4 ± 1.16	2.77 ± 0.537	11.7 ± 0.418	-
	0.1 µM quinidine + 3 µM elacridar		2.17 ± 0.105	1.77 ± 0.165	1.23 ± 0.0597	98 ± 0.557
	0.3 µM Acoramidis		1.70 ± 0.272	1.20 ± 0.371	1.42 ± 0.227	-
	3 µM Acoramidis		1.53 ± NA	0.770 ± 0.0694	1.99 ± NA	-
	3 µM Acoramidis + 3 µM elacridar		1.69 ± 0.579	1.02 ± 0.199	1.66 ± 0.569	ND
	30 µM Acoramidis		1.38 ± 0.196	0.820 ± 0.281	1.68 ± 0.239	-

Abbreviations: NA = not available, one of the triplicates was excluded by the Grubb Test, ND = not determined due to lack of inhibition

[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 62: BSEP Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-163
Test Article: Acoramidis
Study System: Sf9 insect cell vesicles expressing human BSEP
Target entity, Test system, and Method: Sf9 insect cell vesicles expressing human BSEP were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-taurocholic acid), or reference inhibitor (rifampicin) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 15 min. At the end of the incubation, samples were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Vesicular Accumulation (+ATP) (pmol/min/mg)[a]	Vesicular Accumulation (+ADP) (pmol/min/mg)[a]	Net Transporter Mediated Vesicular Accumulation (pmol/min/mg)[a]	Inhibition (%)[a]
BSEP	1 µM taurocholate	35.3 ± 0.525	2.91 ± 0.209	32.4 ± 0.525	-
	1 µM taurocholate + 300 µM rifampicin	2.79 ± 0.118	1.96 ± 0.0669	0.824 ± 0.118	97.5 ± 0.365
	0.3 µM Acoramidis	0.0652 ± 0.0237	0.0964 ± 0.0216	-0.0311 ± 0.0237	-
	3 µM Acoramidis	0.572 ± 0.0134	0.597 ± 0.116	-0.0245 ± 0.0134	-
	3 µM Acoramidis + 300 µM rifampicin	0.439 ± 0.106	0.481 ± 0.0484	-0.0425 ± 0.106	ND
	30 µM Acoramidis	4.15 ± 0.466	2.65 ± 0.233	1.50 ± 0.466	-

Abbreviations: ND = not determined due to lack of inhibition

[a] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 63: OAT1 Substrate Assay with Acoramidis for Determination of K_m and V_{max}

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-243
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OAT1
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OAT1 were incubated with acoramidis (0.1 – 100 µM), probe substrate ([3H]-p-aminohippurate), or reference inhibitor (probenecid) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter	Test Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[a]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[a]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[a]
OAT1	2 µM p-aminohippurate	2.48 ± 0.416	0.0362 ± 0.00907	2.44 ± 0.416
	0.1 µM Acoramidis	0.267 ± 0.0466	0.00782 ± 0.00263	0.259 ± 0.0466
	0.3 µM Acoramidis	0.659 ± 0.0603	0.0249 ± 0.00149	0.634 ± 0.0603
	3 µM Acoramidis	7.51 ± 0.481	0.285 ± 0.0628	7.23 ± 0.481
	10 µM Acoramidis	15.7 ± 2.43	1.64 ± NA	14.1 ± 2.43
	30 µM Acoramidis	23.8 ± 2.62	2.63 ± 0.653	21.2 ± 2.62
	60 µM Acoramidis	32.9 ± 2.11	5.30 ± 0.648	27.6 ± 2.11
	100 µM Acoramidis	48.6 ± 5.57	10.2 ± 0.757	38.4 ± 5.57

Abbreviations: NA = One of the triplicates was removed by Grubbs test; therefore, no standard deviation is reported for this value
[a] Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 64: BCRP Substrate Assay with Acoramidis for Determination of K_m and V_{max}

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-242
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human BCRP
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human BCRP were incubated with acoramidis, probe substrate ([3H]-prazosin), or reference inhibitor (Ko143) and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 90 min. At the end of the incubation, aliquots from both apical and basal side were analyzed either by radiometric detection or LC-MS/MS.

Transporter Cell Type	Condition	P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s)[a]		Vectorial Net Transport (B→A)-(A→B)[a] ($pmoles/min/cm^2$)	Efflux Ratio (ER)[a]
		(B→A)	(A→B)		
BCRP Cells	2 µM prazosin	171 ± 21.7	18.8 ± 8.02	4.07 ± 0.579	9.09 ± 1.15
	0.1 µM Acoramidis	25.3 ± 6.74	BLQ	0.214 ± 0.0621	ND
	0.3 µM Acoramidis	30.3 ± 4.44	BLQ	0.767 ± 0.117	ND
	1 µM Acoramidis	32.0 ± 4.74	0.513 ± 0.0501	2.61 ± 0.393	62.5 ± 9.24
	3 µM Acoramidis	32.5 ± 6.80	0.985 ± 0.108	7.10 ± 1.53	33.0 ± 6.90
	10 µM Acoramidis	28.1 ± 5.38	0.487 ± 0.205	20.5 ± 4.00	57.7 ± 11.0
	30 µM Acoramidis	29.5 ± 3.75	0.762 ± 0.0426	66.1 ± 8.64	38.7 ± 4.93
	100 µM Acoramidis	29.1 ± 4.27	1.00 ± 0.0952	207 ± 31.4	29.1 ± 4.27
Control cells	2 µM prazosin	96.8 ± 7.29	47.6 ± 4.30	1.31 ± 0.195	2.03 ± 0.153
	0.1 µM Acoramidis	3.91 ± 1.48	BLQ	0.00741 ± 0.0136	ND
	0.3 µM Acoramidis	7.60 ± 2.11	BLQ	0.174 ± 0.0556	ND
	1 µM Acoramidis	8.39 ± 1.35	2.63 ± 0.250	0.478 ± 0.112	3.19 ± 0.512
	3 µM Acoramidis	8.46 ± 2.80	3.90 ± 2.10	1.03 ± 0.632	2.17 ± 0.718
	10 µM Acoramidis	8.29 ± 1.24	2.35 ± 0.169	4.42 ± 0.924	3.53 ± 0.530
	30 µM Acoramidis	8.29 ± 1.17	2.80 ± 0.235	12.6 ± 2.68	2.96 ± 0.416
	100 µM Acoramidis	9.16 ± 0.349	3.43 ± 0.323	42.2 ± 2.57	2.67 ± 0.102
Transporter Cell Type	Condition		ER BCRP Cells[a]	ER Control Cells[a]	Net Efflux Ratio ER (BCRP)/Mean ER (Control)[a]
Net	2 µM prazosin		9.09 ± 1.15	2.03 ± 0.153	4.47 ± 0.566
	0.1 µM Acoramidis		ND	ND	ND
	0.3 µM Acoramidis		ND	ND	ND
	1 µM Acoramidis		62.5 ± 9.34	3.19 ± 0.512	19.6 ± 2.90
	3 µM Acoramidis		33.0 ± 6.90	2.17 ± 0.718	15.2 ± 3.19
	10 µM Acoramidis		57.7 ± 11.0	3.53 ± 0.530	16.3 ± 3.12
	30 µM Acoramidis		38.7 ± 4.93	2.96 ± 0.416	12.2 ± 0.357
	100 µM Acoramidis		29.1 ± 4.27	2.67 ± 0.102	10.3 ± 1.80

Abbreviations: ND = Not determined

[a] Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 65: Uptake (SLC) Transporter Inhibition Assays with Acoramidis

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-162
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[b]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[b]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[b]	Inhibition (%)[b]	P Value
OAT1	vehicle (0.5% DMSO)	2.17 ± 0.302	0.0267 ± 0.0103	2.14 ± 0.302	-	-
	30 µM Acoramidis	0.256 ± 0.0275	0.0370 ± 0.0154	0.219 ± 0.0275	89.8 ± 1.29	0.0004
	100 µM probenecid	0.251 ± 0.0143	0.0404 ± 0.00594	0.210 ± 0.0143	90.2 ± 0669	-
OAT3	vehicle (0.5% DMSO)	0.222 ± 0.0292	0.0418 ± 0.00403	0.181 ± 0.0292	-	-
	30 µM Acoramidis	0.0492 ± 0.00251	0.0388 ± 0.00660	0.0104 ± 0.00251	94.2 ± 1.39	0.0006
	100 µM probenecid	0.0530 ± 0.00444	0.0379 ± 0.00332	0.0152 ± 0.00444	91.6 ± 2.46	-
OCT1	vehicle (0.5% DMSO)	9.08 ± 1.13	0.519 ± 0.0927	8.56 ± 1.13	-	-
	30 µM Acoramidis	7.99 ± 0.406	0.519 ± 0.143	7.47 ± 0.406	12.7 ± 4.74	> 0.05
	1000 µM quinidine	1.12 ± 0.102	0.836 ± 0.0647	0.288 ± 0.102	96.6 ± 1.19	-
OCT2	vehicle (0.5% DMSO)	4.24 ± 0.197	0.141 ± 0.0224	4.09 ± 0.197	-	-
	30 µM Acoramidis	4.30 ± 0.446	0.102 ± NA	4.20 ± 0.446	-2.47 ± 10.9	> 0.05
	1000 µM quinidine	0.705 ± 0.0697	0.557 ± 0.0440	0.149 ± 0.0697	96.4 ± 1.70	-
OATP1B1	vehicle (0.5% DMSO)	2.43 ± 0.215	0.114 ± 0.00892	2.32 ± 0.215	-	-
	30 µM Acoramidis	1.71 ± 0.0438	0.109 ± 0.0136	1.60 ± 0.0438	30.9 ± 1.89	0.0048
	100 µM rifampicin	0.132 ± 0.0172	0.142 ± 0.0149	-0.010 ± 0.0172	100 ± 0.743	-
OATP1B3	vehicle (0.5% DMSO)	1.40 ± 0.132	0.0480 ± 0.00613	1.35 ± 0.132	-	-
	30 µM Acoramidis	1.28 ± 0.109	0.0391 ± 0.0192	1.24 ± 0.109	8.22 ± 8.06	> 0.05
	100 µM rifampicin	0.0613 ± 0.0103	0.0320 ± 0.00307	0.0293 ± 0.0103	97.8 ± 0.761	-
MATE1	vehicle (0.5% DMSO)	9.94 ± 1.20	0.155 ± 0.0248	9.78 ± 1.20	-	-
	30 µM Acoramidis	5.69 ± 2.32	0.112 ± 0.0379	5.58 ± 2.32	43.0 ± 23.8	0.0497
	100 µM cimetidine	0.150 ± 0.0349	0.0832 ± 0.0143	0.0672 ± 0.0349	99.3 ± 0.357	-
MATE2-K	vehicle (0.5% DMSO)	1.57 ± 0.158	0.165 ± 0.00847	1.41 ± 0.158	-	-
	30 µM Acoramidis	1.25 ± 0.243	0.155 ± 0.0662	1.10 ± 0.243	21.9 ± 17.3	> 0.05
	100 µM cimetidine	0.167 ± 0.0216	0.107 ± 0.0369	0.0599 ± 0.0216	95.7 ± 1.53	-

Abbreviations: NA = not available, one of the triplicates was excluded by the Grubb Test

[a] Probe substrate for each transporter was 2 µM p-aminohippurate (OAT1), 100 nM estrone-3-sulfate (OAT3), 2 µM MPP+ (OCT1), 10 µM metformin (OCT2, MATE1, MATE2-K), 2 µM estradiol-17β-D-glucuronide (OATP1B1), and 2 µM CCK-8 (OATP1B3).

[b] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 66: BCRP and P-gp Inhibition Assays with Acoramidis using MDCK-II Cells

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-162
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human BCRP or P-gp
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human BCRP or P-gp were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 90 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Condition	P_{app} ($x10^{-6}$ cm/s)[b]		Mean Net B→A Flux (pmoles/min/cm^2)[b]	Efflux Ratio (P_{app} B→A/P_{app} A→B)[b]	Inhibition (%)[b]	P Value
		B→A	A→B				
BCRP	vehicle (0.5% DMSO)	42.4 ± 1.31	3.44 ± 0.327	6.67 ± 0.223	12.4 ± 0.380	-	-
	30 µM Acoramidis	41.7 ± 2.38	3.87 ± 0.400	6.46 ± 0.407	10.8 ± 0.616	13.9 ± 5.42	0.0195
	1 µM Ko143	16.3 ± 1.39	12.9 ± 2.31	0.566 ± 0.238	1.26 ± 0.108	97.7 ± 0.947	-
P-gp	vehicle (0.5% DMSO)	70.8 ± 2.53	2.18 ± 0.226	0.586 ± 0.0216	32.4 ± 1.16	-	-
	30 µM Acoramidis	73.5 ± 2.73	1.86 ± 0.102	0.612 ± 0.0234	39.5 ± 1.47	-22.5 ± 4.68	0.0028
	3 µM elacridar	21.9 ± 1.06	10.1 ± 0.529	0.101 ± 0.00910	2.17 ± 0.105	96.3 ± 0.336	-

[a] Probe substrate for each transporter was 2 µM prazosin (BCRP), and 100 nM quinidine (P-gp).
[b] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 67: BCRP, P-gp, and BSEP Inhibition Assays with Acoramidis using Membrane Vesicles

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-162
Test Article: Acoramidis
Study System: Sf9 insect cell vesicles expressing human BCRP, P-gp or BSEP
Target entity, Test system, and Method: Sf9 insect cell vesicles expressing BCRP, P-gp, or BSEP were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis or probe substrate at 37 °C for 5 min (BCRP or P-gp) or 15 min (BSEP). At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Condition	Vesicular Accumulation (pmol/mg/mg protein)[b]		Net Transporter Mediated Vesicular Accumulation (pmol/min/mg protein)[b]	Inhibition (%)[b]	P Value
		+ATP	+AMP			
BCRP	vehicle	16.1 ± 1.41	2.20 ± 0.335	13.9 ± 1.41	-	-
	30 µM Acoramidis	14.5 ± 0.963	2.26 ± 0.415	12.2 ± 0.963	12.1 ± 6.92	> 0.05
	10 µM BSP	2.48 ± 0.417	1.51 ± 0.160	0.972 ± 0.417	93.0 ± 3.00	-
P-gp	vehicle	2.96 ± 0.249	0.154 ± 0.0144	2.81 ± 0.249	-	-
	30 µM Acoramidis	2.59 ± 0.0951	0.152 ± 0.0170	2.44 ± 0.0951	13.1 ± 3.39	> 0.05
	10 µM BSP	0.225 ± 0.0371	0.116 ± 0.00584	0.110 ± 0.0371	96.1 ± 1.32	-
BSEP	vehicle	36.6 ± 1.25	2.98 ± 0.292	33.6 ± 1.25	-	-
	30 µM Acoramidis	35.1 ± 2.38	2.84 ± 0.127	32.2 ± 2.38	4.00 ± 7.10	> 0.05
	300 µM rifampicin	3.11 ± 0.292	1.94 ± 0.0801	1.18 ± 0.292	96.5 ± 0.870	-

[a] Probe substrate for each transporter was 1 µM CCK-8 (BCRP), 0.1 µM CCK-8 (P-gp) and 1 µM taurocholate (BSEP).
[b] Data were represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 68: OAT1, OAT3, and MATE1 Inhibition Assays with Acoramidis for Determination of IC_{50}

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-068
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Acoramidis Concentration (μM)[b]	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[b]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[b]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[b]	Inhibition (%)[b]
OAT1	0	3.30 ± 0.229	0.0451 ± 0.0212	3.26 ± 0.229	-
	0.3	2.51 ± 0.0260	0.0521 ± 0.00910	2.45 ± 0.0260	24.6 ± 0.800
	1	2.25 ± 0.0607	0.0486 ± 0.0161	2.20 ± 0.0607	32.4 ± 1,87
	3	0.246 ± 0.0430	0.110 ± 0.0224	0.136 ± 0.0430	95.8 ± 1.32
	10	0.576 ± 0.0181	0.0562 ± 0.00359	0.520 ± 0.0181	84.0 ± 0.557
	30	0.265 ± 0.00500	0.0438 ± 0.00359	0.221 ± 0.00500	93.2 ± 0.154
	100	0.133 ± 0.0227	0.0479 ± 0.0165	0.0848 ± 0.0227	97.4 ± 0.698
	100 μM probenecid	0.274 ± 0.00435	0.0416 ± 0.0105	0.232 ± 0.0044	92.9 ± 0.134
OAT3	0	0.150 ± 0.0173	0.0218 ± 0.000916	0.128 ± 0.0173	-
	0.3	0.127 ± 0.0164	0.0211 ± 0.00142	0.106 ± 0.0164	17.4 ± 12.8
	1	0.0921 ± 0.0105	0.0223 ± 0.00138	0.0698 ± 0.0105	45.6 ± 8.15
	3	0.0583 ± 0.00275	0.0202 ± 0.00177	0.0381 ± 0.00275	70.3 ± 2.14
	10	0.0364 ± 0.00187	0.0199 ± 0.00117	0.0165 ± 0.00187	87.2 ± 1.46
	30	0.0291 ± 0.00201	0.0195 ± 0.00154	0.00961 ± 0.00201	92.5 ± 1.56
	100	0.0231 ± 0.00288	0.0218 ± 0.00372	0.00128 ± 0.00288	99.0 ± 2.25
	100 μM probenecid	0.0282 ± 0.00254	0.0206 ± 0.000739	0.00760 ± 0.00254	94.1 ± 1.98
MATE1	0	11.3 ± 1.14	0.128 ± 0.0320	11.2 ± 1.14	-
	1	10.8 ± 0.323	0.146 ± 0.0190	10.7 ± 0.323	4.88 ± 2.88
	3	11.2 ± 0.249	0.119 ± 0.0200	11.0 ± 0.249	1.41 ± 2.22
	10	10.9 ± 0.235	0.111 ± 0.0138	10.8 ± 0.235	3.31 ± 2.10
	30	9.82 ± 0.620	0.109 ± 0.0251	9.72 ± 0.620	13.3 ± 5.53
	100	7.21 ± 0.293	0.122 ± 0.0268	7.09 ± 0.293	36.7 ± 2.61
	200	5.44 ± 0.413	0.149 ± 0.0138	5.29 ± 0.413	52.8 ± 3.68
	100 μM cimetidine	0.28 ± 0.0107	0.125 ± 0.0200	0.154 ± 0.0107	98.6 ± 0.0958

[a] Probe substrates were 2 μM p-aminohippurate (OAT1), 0.1 μM estrone-3-sulfate (OAT3), and 10 μM metformin (MATE1).
[b] Data are represented by the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 69: OAT3 Inhibition Assays with Acoramidis and Probenecid Using Furosemide as a Substrate

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-115
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OAT3
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OAT3 were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis, probenecid, or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter/ Substrate[a]	Test Condition	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[b]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[b]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[b]	Inhibition (%)[b]
OAT3/10 µM PAH	vehicle (0.5% DMSO)	0.689 ± 0.0728	0.256 ± 0.0538	0.433 ± 0.0728	-
	Probenecid 100 µM	0.201 ± 0.0288	0.226 ± 0.0293	-0.0252 ± 0.0288	106 ± 6.64
OAT3/0.119 µM furosemide	vehicle (0.5% DMSO)	0.227 ± 0.0250	0.0165 ± 0.00704	0.211 ± 0.0250	-
	Acoramidis 0.3 µM	0.199 ± 0.0132	0.0253 ± 0.00241	0.174 ± 0.0132	17.5 ± 6.28
	Acoramidis 1 µM	0.149 ± 0.0362	0.0285 ± 0.00899	0.121 ± 0.0362	42.7 ± 17.2
	Acoramidis 3 µM	0.0933 ± 0.0138	0.0212 ± 0.0126	0.0721 ± 0.0138	65.7 ± 6.56
	Acoramidis 10 µM	0.0405 ± 0.0219	0.0226 ± 0.0105	0.0179 ± 0.0219	91.5 ± 10.4
	Acoramidis 30 µM	0.0196 ± 0.00748	0.0101 ± 0.00455	0.00947 ± 0.00748	95.5 ± 3.55
	Acoramidis 100 µM	0.0136 ± 0.00672	0.00959 ± 0.00145	0.00403 ± 0.00672	98.1 ± 3.19
OAT3/10 µM PAH	vehicle (0.5% DMSO)	1.03 ± 0.0506	0.249 ± 0.0252	0.777 ± 0.0506	-
	Probenecid 100 µM	0.228 ± 0.0397	0.262 ± 0.0537	-0.0337 ± 0.0397	104 ± 5.10
OAT3/0.119 µM furosemide	vehicle (0.5% DMSO)	0.146 ± 0.0399	0.0163 ± 0.000370	0.130 ± 0.0399	0.00 ± 30.8
	Probenecid 0.3 µM	0.147 ± 0.00336	0.0141 ± 0.00115	0.133 ± 0.00336	-2.50 ± 2.59
	Probenecid 1 µM	0.155 ± 0.00890	0.0101 ± 0.00350	0.145 ± 0.00890	-12.0 ± 6.86
	Probenecid 3 µM	0.124 ± 0.00515	0.0220 ± 0.00584	0.102 ± 0.00515	21.6 ± 3.97
	Probenecid 10 µM	0.0633 ± 0.0152	0.0260 ± 0.00299	0.0373 ± 0.0152	71.2 ± 11.7
	Probenecid 30 µM	0.0307 ± 0.000359	0.0343 ± 0.00302	-0.00360 ± 0.000359	103 ± 0.277
	Probenecid 100 µM	0.0232 ± 0.00198	0.0269 ± 0.00381	-0.00369 ± 0.00198	103 ± 1.53

[a] The probe substrate for OAT3 was 10 µM PAH (p-aminohippurate).
[b] Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 70: Uptake (SLC) Transporter Inhibition Assays with Acoramidis-AG

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-069
Test Article: Acoramidis-AG
Study System: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing the various human SLC transporters were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis-AG or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Conditions	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[b]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[b]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[b]	Inhibition (%)[b]	P Value
OAT1	vehicle (0.5% DMSO)	3.79 ± 0.123	0.0284 ± 0.00526	3.76 ± 0.123	-	-
	20 µM Acoramidis-AG	2.93 ± 0.137	0.0266 ± 0.00803	2.90 ± 0.137	22.8 ± 3.64	0.0013
	100 µM probenecid	0.512 ± 0.0483	0.0196 ± 0.0161	0.492 ± 0.0483	86.9 ± 1.29	-
OAT3	vehicle (0.5% DMSO)	0.281 ± 0.00355	0.0440 ± 0.00394	0.237 ± 0.00355	-	-
	20 µM Acoramidis-AG	0.130 ± 0.00570	0.0438 ± 0.00320	0.0864 ± 0.00570	63.5 ± 2.41	< 0.0001
	100 µM probenecid	0.0706 ± 0.00159	0.0402 ± 0.00533	0.0305 ± 0.00159	87.1 ± 0.672	-
OCT2	vehicle (0.5% DMSO)	12.3 ± 1.75	0.618 ±0.0332	11.7 ± 1.75	-	-
	20 µM Acoramidis-AG	11.3 ± 1.16	0.546 ± 0.0648	10.7 ± 1.16	8.36 ± 9.93	> 0.05
	1000 µM quinidine	0.0294 ± 0.0509	-0.0237 ± 0.0415	0.0532 ± 0.0509	99.5 ± 0.436	-
MATE1	vehicle (0.5% DMSO)	26.0 ± 2.85	0.314 ± 0.0641	25.7 ± 2.85	-	-
	20 µM Acoramidis-AG	17.6 ± 1.76	0.235 ± 0.0219	17.4 ± 1.76	32.3 ± 6.86	0.0127
	100 µM cimetidine	0.459 ± 0.0777	0.211 ± 0.0404	0.248 ± 0.0777	99.0 ± 0.302	-
MAT2-K	vehicle (0.5% DMSO)	2.12 ± 0.203	0.314 ± 0.0641	1.81 ± 0.203	-	-
	20 µM Acoramidis-AG	2.43 ± 0.136	0.235 ± 0.0219	2.19 ± 0.136	-21.1 ± 7.50	> 0.05
	100 µM cimetidine	0.456 ± 0.0358	0.211 ± 0.0404	0.244 ± 0.0358	86.5 ± 1.98	-

[a] The probe substrate for each transporter was 2 µM p-aminohippurate (OAT1), 0.1 µM estrone-3-sulfate (OAT3), 10 µM metformin (OCT2, MATE1 and MATE2-K).
[b] Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

Table 71: OAT3 Inhibition Assays with Acoramidis-AG for Determination of IC_{50}

Test article: Acoramidis

Study No.: [redacted]-20[redacted]-142
Test Article: Acoramidis
Study System: MDCK-II cells expressing human OAT3
Target entity, Test system, and Method: MDCK-II cells expressing human OAT3 were incubated with reference inhibitor, and either acoramidis or probe substrate at 37°C for 5 min. At the end of the incubation, samples were analyzed by radiometric detection.

Transporter[a]	Acoramidis-AG Concentration (μM)[b]	Cellular Accumulation (Transporter) (pmol/min/cm^2)[b]	Cellular Accumulation (Control) (pmol/min/cm^2)[b]	Net Transporter Mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)[b]	Inhibition (%)[b]
OAT3	0	0.144 ± 0.00531	0.0219 ± 0.00147	0.122 ± 0.00531	-
	0.3	0.141 ± 0.0110	0.0212 ± 0.000558	0.119 ± 0.0110	2.06 ± 9.04
	1	0.130 ± 0.00431	0.0222 ± 0.000777	0.108 ± 0.00431	11.2 ± 3.54
	3	0.125 ± 0.00207	0.0242 ± 0.000406	0.101 ± 0.00207	17.3 ± 1.70
	10	0.106 ± 0.00636	0.0204 ± 0.000845	0.0853 ± 0.00636	30.0 ± 5.22
	30	0.0930 ± 0.00874	0.0198 ± 0.00215	0.0733 ± 0.00874	39.9 ± 7.17
	100	0.0507 ± 0.00281	0.0187 ± 0.00383	0.0320 ± 0.00281	73.7 ± 2.31
	100 μM probenecid	0.0273 ± 0.00121	0.0207 ± 0.00171	0.00655 ± 0.00121	94.6 ± 0.994

[a] The probe substrate for OAT3 was 0.1 μM estrone-3-sulfate.
[b] Data represent the mean and standard deviation of triplicate samples.

16 薬物動態試験：その他

Table 72: Assessment of Pharmacokinetics Following Tablet or Capsule Administration of Acoramidis to Dogs

Test article: Acoramidis

Study	EID-[redacted]01		
Species	Dog, Beagle		
Feeding Condition	Fasted		
Analyte	Acoramidis		
Sample	K2-EDTA plasma		
Assay	LC-MS/MS		
Vehicle/Formulation	5 mg/kg in 0.5% methylcellulose	20 mg/kg in 0.5% methylcellulose	20 mg/kg in capsule
Gender (M/F)/No. of Animals	M/2, F/2	M/2, F/2	M/2, F/2
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
PK Parameters			
C_{max} (µg/mL)	3.21 ± 0.238	8.10 ± 3.27	10.3 ± 3.17
T_{max} (hr)	2.50 ± 1.00	2.50 ± 1.00	2.00 ± 0
AUC_{last} (µg*hr/mL)	47.9 ± 5.24	71.2 ± 8.50	89.3 ± 10.7

Table 73: Assessment of Pharmacokinetics Following Tablet or Capsule Administration of Acoramidis to Dogs

Test article: Acoramidis

Study	ZT-001-DA-DE		
Species	Dog, Beagle		
Feeding Condition	Fasted		
Analyte	Acoramidis		
Sample	K2-EDTA plasma		
Assay	LC-MS/MS		
Vehicle/Formulation	Tablet, 50 mg	Tablet, 200 mg	Capsule, 200 mg
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4	M/4	M/4
Treatment	Vehicle for pentagastrin	Pentagastrin 0.006 mg/kg	Omeprazole 20 mg
Method of Administration	Oral (gavage)	Oral (gavage)	Oral (gavage)
PK Parameters			
C_{max} (µg/mL)	4.66 ± 0.941	13.0 ± 2.73	9.33 ± 2.18
T_{max} (hr)	0.500 ± 0	1.00 ± 0	1.38 ± 0.750
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	41.5 ± 5.03	88.0 ± 12.0	65.7 ± 8.67

Table 74: Assessment of Pharmacokinetics Following Administration of Different Tablet Formulations of Acoramidis to Dogs

Test article: Acoramidis

Study	EID-[redacted]01		
Species	Dog, Beagle		
Feeding Condition	Fasted		
Analyte	Acoramidis		
Sample	K2-EDTA plasma		
Assay	LC-MS/MS		
Pre-treatment	Pentagastrin 6 µg/kg		
Method of Administration	Oral (gavage)		
Vehicle/Formulation	Tablet, 2x200 mg (400 mg acoramidis HCl)	Tablet, 711 mg core (400 mg acoramidis HCl)	Tablet, 533 mg core (400 mg acoramidis.HCl)
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4	M/4	M/4
PK Parameters			
C_{max} (µg/mL)	26.3 ± 5.34	25.2 ± 9.52	24.4 ± 0.762
T_{max} (hr)	1.25 ± 0.500	1.25 ± 0.500	1.50 ± 0.577
$AUC_{0\text{-}inf}$ (µg*hr/mL)	215 ± 85.8	229 ± 55.3	205 ± 26.3

Table 75: Assessment of Pharmacokinetics Following Administration of Different Extended Release Formulations of Acoramidis to Dogs

Test article: Acoramidis

Study	EID-[redacted]02			
Species	Dog, Beagle			
Feeding Condition	Fasted			
Analyte	Acoramidis			
Sample	K2-EDTA plasma			
Assay	LC-MS/MS			
Pre-treatment	Pentagastrin 6 µg/kg			
Method of Administration	Oral (gavage)			
Vehicle/Formulation	ER-55A (200 mg acoramidis)	ER-59 (200 mg acoramidis)	ER-62 (200 mg acoramidis)	ER-66 (200 mg acoramidis)
Gender (M/F)/ No. of Animals	M/4	M/4	M/4	M/4
PK Parameters				
C_{max} (µg/mL)	6.75 ± 0.813	5.52 ± 2.96	4.95 ± 2.16	9.59 ± 2.91
C_{24} (µg/mL)	1.50 ± 0.352	1.18 ± 0.421	1.64 ± 0.633	1.51 ± 0.360
T_{max} (hr)	1.75 ± 0.433	2.00 ± 1.41	1.75 ± 0.500	4.00 ± 0
$AUC_{0\text{-}inf}$ (µg*hr/mL)	114 ± 27.7	86.0 ± 38.6	100 ± 36.3	112 ± 44.6