TABLE OF CONTENTS

略号一覧表 4
2.6.6 毒性試験の概要文 6
1 まとめ 6
2 単回投与毒性試験 11
3 反復投与毒性試験 11
3.1 ラットを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8355817 試験） 11
3.2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8355824 試験） 12
3.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8366846 試験） 14
3.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、20[redacted]1689 試験） 17
3.5 イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8350153 試験） 18
3.6 イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8355818 試験） 20
3.7 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8355825 試験） 21
3.8 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8366847 試験） 24
3.9 イヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、20[redacted]1692 試験） 25
4 遺伝毒性試験 27
4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用、8358481 試験） 27
4.2 ラットを用いた小核試験及びアルカリコメットアッセイ（GLP 適用、8358482 試験） 28
5 がん原性試験 28
5.1 rasH2 野生型マウスを用いた 4 週間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8409781 試験） 28
5.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験（GLP 適用、8410991 試験） 30
5.3 ラットを用いた 104 週間がん原性試験（GLP 適用、8409782 試験） 31
6 生殖発生毒性試験 34
6.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（GLP 適用、20[redacted]3873 試験） 34
6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用、8405806 試験） 36
6.3 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、8411734 試験） 37

6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用、8405805 試験） 38
6.5 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、8411735 試験） 39
6.6 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（GLP 適用、8411736 試験） 41
7 局所刺激性試験 43
8 その他の毒性試験 43
8.1 BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro NRU 光毒性試験（GLP 適用、20[redacted]8057 試験） 43
8.2 アコラミジス不純物の評価 44
9 考察及び結論 44
10 参考文献 48

LIST OF TABLES

Table 1: Toxicology Program 7
Table 2: Study Design of 7-Day Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage 11
Table 3: Overview of Toxicokinetic Data 12
Table 4: Study Design of a 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with A 2-week Recovery Phase 13
Table 5: Overview of Toxicokinetic Data 14
Table 6: Study Design of a 13-week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase 15
Table 7: Overview of Toxicokinetic Data 16
Table 8: Study Design of a 26-week Study of Acoramidis by Oral Gavage in Rats with a 28-day Recovery 17
Table 9: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis 18
Table 10: Study Design of a 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 7-day Recovery 19
Table 11: Overview of Toxicokinetic Data 20
Table 12: Study Design of a 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage 20
Table 13: Overview of Toxicokinetic Data 21
Table 14: Study Design of a 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with 2-week Recovery Phase 22
Table 15: Overview of Toxicokinetic Data 24
Table 16: Study Design of a 13-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase 24
Table 17: Overview of Toxicokinetic Data 25

Table 18: Study Design of a 39-week Study of Acoramidis by Oral Gavage in Dogs with a 28-day Recovery Period 26
Table 19: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis 27
Table 20: Study Design of Acoramidis Pre-Carcinogenicity 4-week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type) 29
Table 21: Overview of Toxicokinetic Data 30
Table 22: Study Design of 26-week Oral Gavage Carcinogenicity Study with Acoramidis in 001178-T (Hemizygous) Mice 31
Table 23: Study Design of Acoramidis 104-week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats 32
Table 24: Overview of Toxicokinetic Data 33
Table 25: Study Design of a Fertility and Early Embryonic Development Study of Acoramidis Administered by Oral Gavage in Rats 34
Table 26: Study Design of Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study with Acoramidis in Rats 36
Table 27: Study Design of Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with Acoramidis in Rats 37
Table 28: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis 38
Table 29: Study Design of Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Developmental Study with Acoramidis in Rabbits 38
Table 30: Study Design of Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with Acoramidis in Rabbits 40
Table 31: Overview of Toxicokinetic Data 41
Table 32: Study Design of Oral Gavage Study for Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function, with Acoramidis in Rats 41
Table 33: Results of Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of Acoramidis in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts 44
Table 34: Toxicology Studies and Safety Margin Calculations for Total Acoramidis Using Exposures from 800 mg Human Dose (Clinical Study AG10-001) 47
Table 35: Chronic Toxicology Studies and Safety Margin Calculations for Total Acoramidis Using Exposures from 2000 mg Human Dose (Clinical Study AG10-005) 48

略号一覧表

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）
A/G	albumin/globulin	アルブミン／グロブリン
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ATTR	transthyretin amyloidosis	トランスサイレチン型アミロイドーシス
ATTR-CM	ATTR cardiomyopathy	トランスサイレチン型心アミロイドーシス
ATTR-PN	ATTR polyneuropathy	トランスサイレチン型アミロイドポリニューロパチー
AUC	area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve calculated 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
AUC_t	area under the concentration-time curve calculated to the last observable concentration at time t	時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点（t）までの濃度時間曲線下面積
AUC_{24h}	area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours	投与 0 時間から 24 時間後までの濃度時間曲線下面積
C_{max}	peak (maximum) plasma concentration of the drug	最高血漿中濃度
ECG	electrocardiogram	心電図
EFD	embryo fetal development	胚・胎児発生
FEED	fertility and early embryonic development	受胎能及び着床までの初期胚発生
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
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
LD	lactation day	授乳日数
MAD	multiple ascending dose	反復漸増投与
MNU	N-methyl-N-nitrosourea	N-メチル-N-ニトロソ尿素
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
NRU	Neutral Red Uptake	ニュートラルレッド取り込み
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PPND	pre- and postnatal development	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能
QTc	corrected QT interval	補正 QT 間隔
RO	reverse osmosis	逆浸透現象

略語・用語	定義（英語）	定義（日本語）
T4	thyroxine	チロキシン
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
tmax	time to maximun concentration	最高血中濃度到達時間
TTR	transthyretin	トランスサイレチン
UV	ultraviolet	紫外線
UVR	ultraviolet radiation	紫外線照射
w/v%	weight/volume%	質量対容量百分率

2.6.6　毒性試験の概要文

1　まとめ

アコラミジス塩酸塩（ALXN2060 又は AG10；以下、アコラミジス）は、トランスサイレチン（TTR）型心アミロイドーシス（ATTR-CM）の経口治療薬として開発中の、強力かつ選択性の高い低分子トランスサイレチン安定化薬である。アコラミジスは、疾患抑制性 TTR 遺伝子変異体 T119M の安定化作用を模倣することにより、TTR に対する特有の結合様式により TTR を安定化する（Miller, 2018）。

アコラミジスの毒性標的器官、毒性発現用量及び曝露量、並びに可逆性について、臨床投与経路（経口）による一連の GLP 適用及び非適用の毒性試験により評価した。毒性試験（GLP 適用）の試験デザイン及び評価項目は、ICH M3[R2]ガイドラインに準拠して米国及び英国で実施した。米国の試験施設（[redacted]、[redacted]、[redacted]）は、米国食品医薬品局（FDA）の GLP 規制（21CFR Part 58）を遵守している。[redacted] は、英国医薬品・医療製品規制庁（MHRA）が監視する経済協力開発機構（OECD）の GLP 原則を遵守している。

毒性試験一覧を Table 1 に示す。ラット、イヌ、サル、及びヒトの肝細胞を 4 時間処理した in vitro 代謝プロファリング試験で、いずれの動物種においてもアコラミジス-AG（アコラミジスアシルグルクロン酸抱合体／アコラミジス-β-D-グルクロン酸抱合体）が主要代謝物であることが確認された。ヒト特異的代謝物は認められなかった。ラット及びイヌの肝細胞におけるアコラミジスの代謝は、ヒト肝細胞と定性的に同様であったことから、ラット及びイヌを毒性試験の供試動物として選択した。ラット、イヌ、及びヒトの血漿中アコラミジス-AG の定量により、in vivo におけるアコラミジス-AG の生成を確認した。

ラット TTR とヒト TTR のアミノ酸配列には 85%の相同性がみられ、147 アミノ酸残基中 22 残基が異なっている（Cody, 2002）。しかしながら、タンパク質の機能領域であるチロキシン（T4）結合ドメインは動物種間で完全に保存されている（Wojtczak, 2001）。さらに、T4 と複合体を形成したヒト及びラットの TTR の X 線構造にはわずかな違いしかみられなかった。このことは、両種における T4 の TTR への結合親和性が同様であることに合致している（ヒトの Kd = 13.6 nM、ラットの Kd = 8 nM）（Chang, 1999）。したがって、ヒト及びラットの TTR は機能的に同等と考えられることから、薬理試験及び毒性試験ではラットを使用した。イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験（8350153 試験、3.5 項）に示すとおり、アコラミジスはヒト TTR と同様にイヌ TTR 四量体を安定化させることが確認されており、イヌは薬理試験及び毒性試験の動物種として適切と考える。

これらの一連の非臨床試験成績は、アコラミジスの臨床用量におけるヒト曝露量に対する広い安全域を示しており、予定臨床用量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、アコラミジスの新薬承認申請を支持するものと考える。

Table 1: Toxicology Program

Study Type and Duration	GLP	Route of Administration	Species	Study Number
Repeated-Dose Toxicity – Module 4.2.3.2				
A 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage	No	Oral gavage	Rat	8355817
A 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Oral gavage	Rat	8355824
A 13-week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Oral gavage	Rat	8366846
A 26-week Study of AG10 by Oral Gavage in Rats with a 28-day Recovery Period	Yes	Oral gavage	Rat	20[redacted]1689
A 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 7-day Recovery	No	Oral gavage	Dog	8350153
A 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage	No	Oral gavage	Dog	8355818
A 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with 2-week Recovery Phase	Yes	Oral gavage	Dog	8355825
A 13-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase	Yes	Oral gavage	Dog	8366847
A 39-week Study of AG10 by Oral Gavage in Dogs with a 28-day Recovery Period	Yes	Oral gavage	Dog	20[redacted]1692
Genotoxicity Studies (In Vitro) – Module 4.2.3.3.1				
AG10: Bacterial Reverse Mutation Assay	Yes	In vitro	Salmonella typhimurium	8358481
Genotoxicity Studies (In Vivo) – Module 4.2.3.3.2				
AG10: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay	Yes	Oral gavage	Rat	8358482
Carcinogenicity Studies (Long-term) – Module 4.2.3.4.1				
26-week Oral Gavage Carcinogenicity Study with AG10 in 001178-T (Hemizygous) mice	Yes	Oral gavage	Mouse	8410991
AG10: 104-week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats	Yes	Oral gavage	Rat	8409782
Carcinogenicity Studies (Short- or Medium-term) – Module 4.2.3.4.2				
AG10: Pre-carcinogenicity 4-week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type)	No	Oral gavage	Mouse	8409781
Fertility and Early Embryonic Development – Module 4.2.3.5.1				
A Fertility and Early Embryonic Development Study of AG10 Administered by Oral (Gavage) in Rats	Yes	Oral gavage	Rat	20[redacted]3873
Embryo-Fetal Development – Module 4.2.3.5.2				
Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study with AG10 in Rats	No	Oral gavage	Rat	8405806
Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with AG10 in Rats	Yes	Oral gavage	Rat	8411734
Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Developmental Study with AG10 in Rabbits	No	Oral gavage	Rabbit	8405805
Oral Gavage Embryo-Fetal Developmental and Toxicokinetic Study with AG10 in Rabbits	Yes	Oral gavage	Rabbit	8411735

Study Type and Duration	GLP	Route of Administration	Species	Study Number
Prenatal and Postnatal Development, including Maternal Function – Module 4.2.3.5.3				
Oral Gavage Study for Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function, with AG10 in Rats	Yes	Oral gavage	Rat	8411736
Other Toxicity Studies (Phototoxicity) – Module 4.2.3.7				
Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of AG10 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	Yes	In vitro	BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	20[redacted]8057

アコラミジスの安全性及び忍容性を裏付ける非臨床試験として、ラット及びイヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（GLP 非適用）、ラット及びイヌを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）、並びにイヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）を実施し、いずれの試験においても TK を評価した。

アコラミジスの用量は、遊離塩基として明記しない限り塩酸塩として表示した。

ラットを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（8355817 試験）では、アコラミジスを 100、400、600、及び 1000 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、1000 mg/kg/日群においても良好な忍容性が認められた。ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（8355824 試験）では、アコラミジスを 50、200、600、及び 1000 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、いずれのアコラミジス投与群においても毒性変化は認められず、無毒性量（NOAEL）は 1000 mg/kg/日と考えられた。これらの結果から、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（8366846 試験）の用量には、50、350、及び 1000 mg/kg/日を設定した。高用量（1000 mg/kg/日）群では忍容性はみられず、42 例中 4 例が死亡した。しかしながら、生存例では投与期間終了時までの生存が認められた。投与期間終了時に体重及び体重増加量の低値がみられた。体重への影響には休薬による回復性がみられたが、毒性変化と判断した。したがって、NOAEL は 350 mg/kg/日と考えられた。13 週間反復投与毒性試験の結果から、26 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1689 試験）の用量には 50、300、及び 600 mg/kg/日を設定した。試験の結果、すべてのアコラミジス投与群で良好な忍容性がみられ、NOAEL は 600 mg/kg/日と考えられた。

イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験（GLP 非適用、8350153 試験）では、高用量（200 mg/kg/日）群においても良好な忍容性が認められた。その後の 7 日間反復投与用量設定試験（GLP 非適用、8355818 試験）では、より高用量（50、200、600、及び 1000 mg/kg/日）を設定し評価した。200 mg/kg/日群では、アコラミジスの良好な忍容性がみられ、600 mg/kg/日群でもおおむね忍容性が認められたが、1000 mg/kg/日群では忍容性がみられず早期安楽死例が認められた。これらの結果から、イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（8355825 試験）の用量には、50、200、400、及び 600 mg/kg/日を設定した。高用量（600 mg/kg/日）群では雄 1 例が安楽死処分し、400 及び 600 mg/kg/日群では病理組織学的変化として心筋変性及び壊死が認められた。当該試験の NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。400 及び 600 mg/kg/日群の結果から、イヌ用いた 13 週間反復投与毒性試験（8366847 試験）の高用量には 300 mg/kg/日を選択した。試験の結果、50、125、及び 300 mg/kg/日群では良好な忍容性が認められ、アコラミジスに関連した毒性変化はみられず、NOAEL は 300 mg/kg/日と考えられた。これらの結果から、イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1692 試験）の用量には、50、112、及び 250 mg/kg/日を設定した。試験の結果、全身毒性又は標的器官毒性は認められず、NOAEL は最高用量の 250 mg/kg/日と考えられた。

アコラミジスの遺伝毒性については、標準的組合せの遺伝毒性試験により評価した。標準的組合せである in vitro 試験（細菌を用いた復帰突然変異試験、8358481 試験）及び 2 種類の in vivo 試験（小核試験及びコメットアッセイ、8358482 試験）により評価した。いずれの試験においても結果は陰性を示したことから、アコラミジスは非変異原性物質と考えられ、ヒトに対する遺伝毒性リスクが低いことが示唆された。

アコラミジスのがん原性試験として、マウスを用いた用量設定試験（8409781 試験）、トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験（8410991 試験）、及びラットを用いた 104 週間がん原性試験（8409782 試験）を実施した。雌雄 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験（用量 : 30、100、及び 300 mg/kg/日）では、アコラミジスに関連した腫瘍性病変は認められなかった。生存率、死亡率、一般状態、体重、及び摂餌量への影響はみられず、器官重量、剖検、及び病理学的検査で異常は認められなかった。したがって、アコラミジスにがん原性がないものと考えられた。Sprague Dawley ラットを用いた 104 週間がん原性及び TK 試験（8409782 試験）では、アコラミジスを雄では 5、15、及び 50 mg/kg/日、雌では 40、120、及び 350 mg/kg/日の用量で反復経口投与した。試験の結果、一般状態に変化はみられず、生存率、体重、及び摂餌量に対する影響は認められず､投与期間終了時までアコラミジスの適切ながん原性評価に十分な動物数が生存した。アコラミジスに関連した腫瘍性病変は認められなかった。アコラミジスのがん原性に対する NOAEL は、雄で 50 mg/kg/日、雌で 350 mg/kg/日と考えられ、雌雄共に最高用量であった。結論として、Sprague Dawley 雌雄ラットにおいて、アコラミジスのがん原性を示唆する変化は認められなかった。

一連の生殖発生毒性試験を実施し、臨床試験及び承認申請に必要なアコラミジスの生殖発生毒性について評価した。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生（FEED）試験、ラット及びウサギを用いた用量設定試験及び胚・胎児発生（EFD）に関する試験、並びに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（PPND）試験を実施した。

ラットを用いた FEED 試験（20[redacted]3873 試験）では、雌雄の交配及び受胎能、並びに初期胚発生に対するアコラミジスの影響は認められなかった。アコラミジスの雌雄親動物の生殖毒性に対する無影響量（NOEL）は、最高用量である 1000 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた EFD 試験（8411734 試験）では、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley 妊娠ラットの器官形成期に、1 日 1 回、経口投与した結果、胎児に異常は認められなかった。50 又は 350 mg/kg/日群ではアコラミジスに関連した影響は認められず、母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL は最高用量の 1000 mg/kg/日と考えられた。

ウサギを用いた EFD 試験（8411735 試験）では、アコラミジスを 25、75、及び 200 mg/kg/日の用量で、妊娠ウサギの器官形成期に、1 日 1 回、経口投与した結果、体重、摂餌量、生殖能力、子宮内検査パラメータ、及び胚・胎児の生存率に被験物質に関連した影響はみられず、胎児毒性及び胎児の形態異常は認められなかった。母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL は最高用量である 200 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた PPND 試験（8411736 試験）では、アコラミジスを 50、350、又は 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley 妊娠ラットに妊娠 6 日から授乳 20 日までの期間、1 日 1 回、経口投与した結果、1000 mg/kg/日群で母動物死亡が発現し、F0 及び F1 動物でアコラミジスに関連した毒性変化が認められた。1000 mg/kg/日群では、妊娠中の体重及び摂餌量の低値がみられ、毒性変化と判断した。対照群と比較して、吸収胚数の高値、出生児数及び生存児数の低値が認められた。いずれのアコラミジス投与群においても授乳期間中のパラメータへの影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の F1 動物では、離乳前に体重の低値がみられ離乳後も持続したが、成熟期間の約 2 週間後の体重増加量は対照群と同等まで回復した。神経行動学的検査では、1000 mg/kg/日群の F1 動物でアコラミジスに関連した近接刺激及び空間認識に対する影響が認められた。350 mg/kg/日群の F1 動物でも一過性の毒性ではない学習障害が認められた。1000 mg/kg/日群の F1 動物で毒性変化がみられたが、同群では母動物毒性が発現しており潜在的な交絡に留意することが必要である。いずれのアコラミジス投与群においても、アコラミジスに関連した F1 動物の死亡及び一般状態の変化はみられず、出生児の発達、摂餌量、胎児重量、性周期、生殖パラメータ、子宮内検査パラメータ、及び剖検で異常は認められなかった。これらの結果から、母動物及び出生児に対する NOAEL は 350 mg/kg/日と考えられた。

紫外線～可視光の波長範囲でアコラミジスの光吸収が認められたため、マウス線維芽細胞を用いた in vitro ニュートラルレッド取込み（NRU）光毒性試験により光毒性を評価した（20[redacted]8057 試験）。試験の結果、アコラミジスの光毒性の可能性は低いことが確認され、ヒトにおける安全性上の懸念は低いと考えられた。

アコラミジス不純物の遺伝毒性について、in silico 解析により評価した（モジュール 3.2.S.3.2）。証拠の重み付け評価から、アコラミジス不純物が遺伝毒性を有する可能性は低いことが示唆された。

毒性試験の曝露量及び以下の 2 試験の臨床試験のヒト PK パラメータ（C_{max} 及び AUC）から算出した安全域を Table 34 及び Table 35 に示す。

アコラミジスの毒性試験の結果から広い安全域が認められ、予定臨床用量におけるヒト曝露量において有害事象が発現する可能性は低いことが示唆された。

1. 予定臨床投与レジメンである 800 mg の用量を 12 時間毎に 12 日間投与した健康成人被験者を対象とした AG10-001 試験（反復漸増投与［MAD］）。
2. 臨床試験におけるアコラミジスの最高用量（2000 mg）を単回経口投与（コホート 3）した健康成人被験者を対象とした AG10-005 試験。

本概要に示す非臨床安全性試験成績はアコラミジスの高い安全性を示しており、予定臨床曝露量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、本剤の新薬承認申請を支持するものと考える。

2　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。

GLP 適用の反復投与毒性試験及び in vivo 遺伝毒性試験における最高用量の初回投与時の一般状態では、ラット（1000 mg/kg/日、1 日 1 回投与、8355824 試験；2000 mg/kg/日、1 日 1 回投与、8358482 試験）ではアコラミジスに関連する変化はみられなかった。イヌ（最高用量 600 mg/kg/日、1 日 1 回投与、8355825 試験）では一過性の嘔吐がみられたが忍容性は良好であった。ラット及びイヌにおける概略の致死量は、それぞれ 2000 mg/kg 及び 600 mg/kg を上回る量と考えられた。

3　反復投与毒性試験

3.1　ラットを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8355817 試験）

本試験では、Sprague Dawley ラットに 7 日間反復経口投与し、アコラミジスの毒性及び TK を評価した。雌雄ラットを 5 群に割り付け、下表に示す用量を投与した。媒体には、逆浸透膜（RO）ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 2）。

Table 2: Study Design of 7-Day Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals			
				Main Study		TK Study	
				M	F	M	F
1 (Control)	0	0	10	5	5	3	3
2 (Low)	100	10		5	5	9	9
3 (Mid)	400	40		5	5	9	9
4 (Mid-High)	600	60		5	5	9	9
5 (High)	1000	100		5	5	9	9

Abbreviations: M = Male; F = Female; TK = Toxicokinetic
Source: Study 8355817

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、剖検、及び器官重量測定を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

本試験では、アコラミジスに関連した死亡及び一般状態の変化はみられず、摂餌量、血液学的検査、血液凝固検査、及び剖検に対する影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では体重に対するアコラミジスに関連した影響がみられ、対照群に比較して、体重増加量の低値（雄で-48%、雌で-36%）が認められた。しかし、体重増加量の変化は、雄の Day 1 から Day 4 は 0 g、Day 4 から Day 7 は+24 g（対照群の-4%）であり、雌の Day 1 から Day 4 は+2 g（対照群の-75%）、Day 4 から Day 7 は+14 g（対照群の-8%）であった。投与期間後半（Day 4 から Day 7）には体重増加量の変化及び一般状態の変化が認められなかったことから、1000 mg/kg/日群の投与期間前半（Day 1 から Day 4）の体重増加量の低値は毒性ではないと判断した。

血液生化学的検査では、アコラミジスに関連した軽微な変化が認められた。400 mg/kg/日以上の群でグルコース及びクロールの低値、600 mg/kg/日以上の群の雄でアルブミンの高値、1000 mg/kg/日群の雌でグロブリンの低値（統計学的有意差なし）に関連したアルブミン／グロブリン（A/G）比、トリグリセリドの高値、、1000 mg/kg/日群の雄でアルカリホスファターゼ（ALP）の高値が認められた。

器官重量の変化として、アコラミジスに関連した胸腺重量（絶対重量及び脳相対重量）に対する影響が雌で顕著に認められた。1000 mg/kg/日群の雌の胸腺絶対重量は、対照群に比較して-35%低値であった。100、400、及び 600 mg/kg/日群の雌でも用量依存的な胸腺重量の低値傾向が認められた。1000 mg/kg/日群の雄の胸腺絶対重量は対照群と比較して-22%低値であった。一般状態及び剖検で関連する変化は認められなかった。

媒体又はアコラミジスを 100、400、600、及び 1000 mg/kg の用量で、雌雄ラットに 1 日 1 回、7 日間反復経口投与した結果、忍容性が認められた。100 mg/kg/日群では被験物質に関連した変化は認められなかった。400 及び 600 mg/kg/日群では血液生化学的検査の変動のみが認められた。1000 mg/kg/日群では投与期間前半（Day 1 から Day 4）に体重増加量の低値がみられたが、投与期間後半（Day 4 から Day 7）には体重増加量の回復性が認められたことから毒性ではないと判断した。雌雄で用量依存的な胸腺重量の低値がみられたが、1000 mg/kg/日群で顕著であった。一般状態及び剖検で関連する変化が認められなかったことから、毒性ではないと判断した。したがって、本試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日と考えられた。この用量の Day 7 の曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、雄ではそれぞれ 237 µg/mL 及び 3220 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 345 µg/mL 及び 4030 µg*hr/mL であった（Table 3）。

Table 3: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
100	1	82.5	105	198	247
	7	88.7	168	234	350
400	1	203	236	1200	2050
	7	195	281	1310	1680
600	1	170	264	1780	2680
	7	225	312	2050	2650
1000	1	182	293	2750	4530
	7	237	345	3220	4030

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

3.2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8355824 試験）

本試験は、Sprague Dawley ラットへの 4 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、2 週間回復性試験により発現した変化の可逆性及び持続性を評価することを目的として実施した。

Sprague Dawley 雌雄ラットを 5 群に割り付け、胃ゾンデを用いて、下表に示す用量を 10 mL/kg の容量で強制経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 4）。

Table 4: Study Design of a 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with A 2-week Recovery Phase

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animalsa			
				Main Study		TK Study	
				M	F	M	F
1 (Control) [b]	0	0	10	15	15	3	3
2 (Low)	50	5		10	10	6	6
3 (Mid)	200	20		10	10	6	6
4 (Mid-High)	600	60		10	10	6	6
5 (High)	1000	100		15	15	6	6

Abbreviations: M = Male; F = Female; TK = Toxicokinetic
[a] Main study animals designated for recovery euthanasia (five animals/sex/group in Groups 1 and 5) underwent 2 weeks of recovery following dosing.
[b] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8355824

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に雌雄差は認められなかったことから、結果及び評価には雌雄合算値を使用した（モジュール 2.6.7.7.7A）。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、50～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴う曝露量の増加が認められた。C_{max} はおおむね用量比を下回る増加を示し、AUC_{24} はおおむね用量比例的に増加した。反復投与によるアコラミジスの蓄積は 2 倍未満であった。

投与期間中及び回復性試験中に、アコラミジスに関連した死亡及び一般状態の変化はみられず、眼科学的検査、血液学的検査、及び血液凝固検査で異常は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では、アコラミジスに関連した体重及び体重増加量の軽微な低値が認められたが、毒性変化ではないと判断した。1000 mg/kg/日群の投与期間終了時の体重は、対照群と比較して、雄で-12%、雌で-8%の低値を示し、体重増加量は雄で-27%、雌で-25%の低値であった。これらの体重の変化には、1000 mg/kg/日群の雄で摂餌量の低値との関連性がみられた。雌雄共に体重増加量への影響には休薬による回復性がみられたが、回復性試験終了時の 1000 mg/kg/日群の体重は依然として低値であった。

アコラミジスに関連した臨床検査値の変動として、血液生化学的検査及び尿検査の変化が 200 mg/kg/日以上の群のみで認められた。いずれの変化も休薬による回復性が認められた。いくつかの変動においては、病理組織学的変化（腎臓における尿細管上皮細胞の空胞化）との関連性が考えられた。600 mg/kg/日以上の群でクロールの軽微から軽度の低値、200 mg/kg/日以上の群で尿量の軽度の高値、尿比重の低値（用量依存性なし）、1000 mg/kg/日群でグレード 1 以上の尿中総白血球発現頻度の軽度の高値が認められた。

1000 mg/kg/日群では摂餌量及び体重の低値に関連する変化がみられ、200 mg/kg/日以上の群で尿素窒素及びグルコースの用量に関連した軽微から軽度の低値、1000 mg/kg/日群の雄でグレード 2+以上の尿中ケトンの発現頻度の高値、600 mg/kg/日以上の群の雄で尿 pH の軽微な低値が認められた。

その他の変化として、600 mg/kg/日以上の群の雄でアルブミン及び A/G 比の軽微な高値、グロブリンの軽微な低値、1000 mg/kg/日群の雄で ALP の軽微な高値、雌で総タンパク質及びグロブリ

ンの軽微な低値、A/G 比の軽微な高値がみられたが、いずれも一般状態又は病理組織学的検査で関連する変化は認められなかった。

投与期間終了時には、肝臓及び腎臓でアコラミジスに関連した変化が認められた。600 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の高値に関連した軽微から軽度の肝細胞肥大が認められた。600 mg/kg/日以上の群の雄及び 50 mg/kg/日以上の群の雌の腎臓で尿細管上皮細胞の軽微から中等度の空胞化がみられ、200 mg/kg/日以上の群の腎臓関連の臨床検査値の変化との関連性が考えられた。

回復性試験終了時には、アコラミジスに関連した肝臓の変化が認められた。1000 mg/kg/日群の雄 1 例で軽微な肝細胞肥大が認められた。雌では完全な回復性がみられたが、雄では十分な回復性は認められなかった。

以上のとおり、雌雄ラットにアコラミジスを 50、200、600、及び 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回、4 週間反復経口投与した結果、良好な忍容性がみられ、毒性変化は認められなかった。毒性変化ではないと判断したアコラミジスに関連した影響として、1000 mg/kg/日群の体重及び体重増加量の低値、及び摂餌量の低値、200 mg/kg/日以上の群で血液生化学的検査及び尿検査における軽微な変化、600 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の高値に関連した肝細胞肥大、600 mg/kg/日以上の群の雄及び 50 mg/kg/日以上の群の雌の腎臓で尿細管上皮細胞の空胞化が認められた。1000 mg/kg/日群の雄 1 例の肝細胞肥大を除いて、いずれの変化も 2 週間の休薬による回復性が認められた。変化の頻度及び重篤度が軽度であり、動物の一般状態への影響が認められないことから、本試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 26 の C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄ではそれぞれ 356 µg/mL 及び 5180 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 364 µg/mL 及び 4460 µg*hr/mL であった。本試験のすべてのアコラミジス投与群の曝露量を以下に示す（Table 5）。

Table 5: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	11.3	40.4	110	110
	26	35.7	68.6	145	123
200	1	69.3	127	334	624
	26	130	294	562	1060
600	1	145	254	1260	2300
	26	216	378	1810	2810
1000	1	172	280	2440	3170
	26	356	364	5180	4460

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

3.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8366846 試験）

本試験は、ラットへの 13 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、2 週間回復性試験により発現した変化の可逆性、持続性、及び遅発性を評価することを目的として実施した。

Sprague Dawley 雌雄ラットを 4 群に割り付け、下表に示す用量を 10 mL/kg の容量で、13 週間反復強制経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 6）。

Table 6: Study Design of a 13-week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animalsa			
				Main Study		TK Study	
				M	F	M	F
1 (Control) [b]	0	0	10	15	15	3	3
2 (Low)	50	5		10	10	6	6
3 (Mid)	350	35		10	10	6	6
4 (High)	1000	100		15	15	6	6

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
[a] Main study animals designated for the recovery euthanasia (five animals/sex/group in Groups 1 and 4) underwent 2 weeks of recovery following dosing.
[b] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8366846

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の雌雄差は 2 倍未満であった。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、50～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴う曝露量の増加が認められた。C_{max} は Day 1 の 50～350 mg/kg/日の用量範囲で用量比例的増加を示したことを除いて、いずれも用量比を下回る増加が認められた。Day 1 及び Day 91 において、AUC_{24h} はおおむね用量比例的な増加を示した。反復投与によりアコラミジスの曝露量に蓄積性が認められた。

アコラミジスに関連した死亡が 1000 mg/kg/日群の主試験群の雄 1 例、雌 2 例、及び TK 試験群の雄 1 例で認められた。

一般状態の変化として、350 mg/kg/日以上の群で口内透明分泌物、1000 mg/kg/日群の雌で Day 1 又は Day 8 に呼吸音が認められた。

投与期間終了時（Day 91）、1000 mg/kg/日群で体重の低値（対照群に比較して雄で約-19%、雌で約-12%）及び体重増加量の低値（雄で約-29%、雌で約-22%）がみられ、これに関連して摂餌量の軽度の低値が認められた。体重増加量及び摂餌量に対する影響は、回復性試験において回復性が認められた。

アコラミジスに関連した臨床検査値の変動が主に 1000 mg/kg/日群で認められたが、おおむね軽微で可逆的であり、変化の程度から毒性学的意義はないと考えられた（モジュール 2.6.7.7.7B）。

Day 23 及び／又は Day 92 に 1000 mg/kg/日群の雄でフィブリノゲン、好中球数、好酸球数、及び単球数の軽微な低値、350 mg/kg/日以上の群で軽度又は中等度のグルコースの低値、350 mg/kg/日以上の群の雌で尿素窒素の軽微な低値、Day 92 に 1000 mg/kg/日群で総タンパク質及びカルシウムの軽度の低値、1000 mg/kg/日群の雌でアルブミンの軽微な低値、Day 23 及び 92 に 350 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌でグロブリンの軽微又は軽度の低値、A/G 比の軽度の高値、Day 23 及び／又は Day 92 に 1000 mg/kg/日群で ALP の軽微又は軽度の高値、クロールの軽微

な低値が認められた。これらの変化の詳細な機序は不明であるが、一部の変化は 1000 mg/kg/日群で認められた摂餌量、体重増加量、及び／又は体重の低値に関連している可能性が考えられた。

尿検査では、1000 mg/kg/日群で、Day 92 に雌で尿比重の軽度の低値、Day 23 及び 92 に雌、Day92 に雄で尿量の軽微な高値、Day 23 及び／又は Day 92 に雌雄で尿 pH の軽微な低値が認められた。これらの変化は、病理組織学的検査で認められた腎臓の尿細管細胞空胞化に関連している可能性が考えられた。さらに、Day 23 及び 92 に 1000 mg/kg/日群の雌で白血球数及びリンパ球数の軽微な高値、Day 92 に 1000 mg/kg/日群の雌で単球数、好塩基球数、及び非染色性大型細胞数の軽微な高値、Day 92 に 1000 mg/kg/日群で無機リンの軽微な高値が認められた。これらの変化の発現機序は不明であり、関連する病理組織学的変化は認められなかった。

1000 mg/kg/日群でみられたすべての臨床検査値の変動については、休薬による回復性が認められた。

アコラミジスに関連した器官重量の変化として、副腎（回復性試験終了時にも存在）、肝臓（休薬により回復）、及び腎臓（休薬により回復）重量の高値が認められた。腎臓重量の変化は雌のみで認められた。1000 mg/kg/日群の雌では、副腎、肝臓、及び腎臓の絶対重量及び相対重量の有意な高値が認められた。350 mg/kg/日群の雌でも副腎及び腎臓重量の高値が認められた。1000 mg/kg/日群の雄では、副腎及び肝臓重量の高値がみられた。

病理組織学的検査では、副腎皮質、肝臓、及び腎臓でアコラミジスに関連した可逆的変化が認められた。1000 mg/kg/日群では、副腎皮質の軽微な肥大、肝臓で軽微な小葉中心性肝細胞肥大、及び腎臓で尿細管空胞化が認められた。350 mg/kg/日群の雌の肝臓で軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

以上のとおり、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量でラットに 13 週間反復経口投与した結果、350 mg/kg/日までの群で良好な忍容性が認められた。1000 mg/kg/日群では忍容性がみられず、42 例中 4 例が死亡した。なお、生存動物は投与期間終了時まで生存した。1000 mg/kg/日群では、投与期間終了時に体重及び体重増加量の低値がみられた。いずれも回復性がみられたが、毒性変化と考えられた。同群の可逆的な摂餌量の低値は毒性変化ではないと判断した。臨床検査値の可逆的な変動、並びに副腎、肝臓、及び腎臓の可逆的な病理組織学的変化は毒性変化ではないと判断した。これらの結果から、本試験の NOAEL は 350 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 91 の C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄ではそれぞれ 281 µg/mL 及び 2080 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 353 µg/mL 及び 1940 µg*hr/mL であった。本試験のアコラミジス投与群の曝露量を Table 7 に示す。

Table 7: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	10.4	17.2	101	95.5
	91	107	161	208	282
350	1	126	194	968	1140
	91	281	353	2080	1940
1000	1	162	249	2250	3580
	91	334	348	4190	4670

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

3.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、20[redacted]1689 試験）

本試験は、Sprague Dawle ラットへの 26 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、4 週間回復性試験により発現した変化の可逆性を評価することを目的として実施した（Table 8）。

Table 8: Study Design of a 26-week Study of Acoramidis by Oral Gavage in Rats with a 28-day Recovery Period

Group No.	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Number of Animals			
				Main Study [a]		TK Study	
				M	F	M	F
1 (Control) [b]	0	10	0	20	20	3	3
2 (Low)	50		5	15	15	6	6
3 (Mid)	300		30	15	15	6	6
4 (High)	600		60	20	20	6	6

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic

[a] Main study animals designated for the recovery euthanasia (five animals/sex/group in Groups 1 and 4) underwent 28-days of recovery following dosing.

[b] Group 1 was administered vehicle control article only.

Source: Study 20[redacted]1689

死亡発現状況、一般状態観察、体重、体重増加量、及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、及び尿検査）、TK パラメータ、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査を実施し評価した。

アコラミジスに関連した死亡はみられず、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固検査、尿検査、剖検、及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。

すべてのアコラミジス投与群の雄で体重増加量の低値がみられた。全投与期間（Day 1 から Day 182）の体重増加量は、対照群と比較して、50、300、及び 600 mg/kg/日群でそれぞれ-12.3%、-17.8%、及び-29.7%の低値を示した。その結果、Day 182 の体重は、50、300、及び 600 mg/kg/日群で対照群よりそれぞれ-9.1%、-12.8%、及び-20.5%の低値であった。投与期間終了時の体重及び体重増加量は、600 mg/kg/日群のみで統計学的有意差が認められた。回復性試験中の 600 mg/kg/日群の体重増加量は対照群に比較して 39.9%の高値を示したが、体重は対照群に比較して統計学的に有意な低値（-20.2%）であった（モジュール 2.6.7.7.7C）。

対照群と比較して、すべてのアコラミジス投与群で摂餌量の低値が認められた。対照群に比較して Day 182 までのすべての投与期間で 50 mg/kg/日群の雄の摂餌量は-1.4%～-13.6%の低値、300 mg/kg/日群の雄では-1.5%～-15.6%の低値を示した。600 mg/kg/日群の雄では最終週を除く回復期間中（Day 204）までのすべての試験期間で、対照群に比較して-3.3%～-17.7%の低値を示した。

雌では、体重、体重増加量、及び摂餌量への影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、投与期間終了時に対照群と比較して、600 mg/kg/日群の雄で統計学的に有意な ALP の高値（89.1%）が認められた。関連する骨、肝臓、又は腸の変化はみられず、被験物質に関連した変化ではあるものの、軽微な変化であることから毒性ではないと考えられた。回復性試験終了時の 600 mg/kg/日群の雄の ALP は対照群より低値であり、完全な回復性が認められた。

器官重量の変化として、600 mg/kg/日群の雌で肝臓重量（絶対及び相対重量）の高値がみられたが、剖検及び病理組織学的検査で関連する変化は認められなかった。関連する病理学的変化がみられず、一般状態への影響が認められなかったことから、毒性変化ではないと判断した。投与期間終了時に 600 mg/kg/日群の雌で認められた肝重量の高値は、回復性試験終了時にはみられず、完全な回復が認められた。

以上のとおり、アコラミジスを 50、300、及び 600 mg/kg/日の用量で、ラットに 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した結果、良好な忍容性が認められた。すべてのアコラミジス投与群の雄で体重、体重増加量、及び摂餌量の低値がみられ、600 mg/kg/日群では統計学的有意差が認められた。明らかな食欲低下を伴う体重増加量の低値は被験物質に関連した変化と考えられたが、器官・組織の変化がみられず一般状態への影響が認められなかったことから、毒性変化ではないと判断した。さらに、600 mg/kg/日群の雄で ALP の軽微な高値がみられ、600 mg/kg/日群の雌で肝臓重量の高値が認められたが、いずれも毒性変化ではないと判断した。したがって、本試験の NOAEL は 600 mg/kg/日と考えられた。Day 182 の 600 mg/kg/日群の C_{max} は雄で 267 µg/mL、雌で 406 µg/mL、AUC_{last} は雄で 2780 µg*hr/mL、雌で 3490 µg*hr/mL であった（Table 9）。

Table 9: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{last} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	13.6	20.1	95.6	91.8
	182	56.5	126	141	171
300	1	123	181	731	849
	182	182	361	1560	1930
600	1	183	174	1280	1620
	182	267	406	2780	3490

Abbreviations: AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to the time of the last measurable concentration; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male
Source: Study 20[redacted]1689, Appendix 16, Table 6 (Acoramidis and Acoramidis-AG toxicokinetic parameters)

3.5 イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8350153 試験）

本試験は、イヌへの 7 日間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、7 日間回復性試験により発現した変化の可逆性及び持続性を評価することを目的として実施した。

雌雄ビーグル犬を 4 群に割り付け、以下に示す用量を投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 10）。

Table 10: Study Design of a 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 7-day Recovery

Group [a]	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals [b]	
				M	F
1 (Control) [b]	0	0	5	6	6
2 (Low)	50	10		2	2
3 (Mid)	100	20		2	2
4 (High)[b]	200	40		6	6

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic

[a] Group 1 was administered vehicle control article only.

[b] The last two animals/sex in control and high-dose groups (based on survival) were designated as recovery animals and were administered vehicle control article or test article for at least 7 days, after which dosing was discontinued and animals were observed for reversibility or of any effects for 7 days.

Source: Study 8350153

死亡発現状況、一般状態観察、体重測定、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査（肝臓及び腎臓）を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

投与液の分析の結果、200 mg/kg/日群の投与液（40 mg/mL）は許容基準を上回る濃度であり、予定用量の 112.6%～127.2%が投与された。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に雌雄差は認められなかった。アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} は 50～200 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴い増加し、おおむね用量比例性を示した。

本試験では死亡は認められなかった。アコラミジスに関連した一般状態の変化として、100 mg/kg/日群の雄及び 200 mg/kg/日群の雌雄で無形便又は水様便の発現頻度の高値のみが認められた。いずれも散発的であり、体重への影響はみられず、獣医学的介入も必要ではなかったことから、毒性ではないと判断した。体重、臨床検査、及び剖検では、アコラミジスに関連した変化は認められなかった。

蛍光プローブ法（FPE）による TTR 安定化アッセイでは、すべてのアコラミジス投与群で標的への結合が認められた。Day 7 の投与 1 時間後の試料では 90%超の占有率を示し、すべてのアコラミジス投与群で投与 1 時間後に TTR 四量体の結合部位にアコラミジスが結合したことが示唆された。また、Day 7 の投与前にも 41%～77%の占有率での結合が認められた。

以上のとおり、媒体又はアコラミジスを 50、100、及び 200 mg/kg/日の用量で、雌雄イヌに 1 日 1 回、7 日間反復経口投与した。被験物質に関連した一般状態の変化として、100 mg/kg/日群の雄及び 200 mg/kg/日群の雌雄で無形便又は水様便の発現頻度の高値がみられたが、毒性ではないと判断した。したがって、本試験の NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 7 の C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄ではそれぞれ 77.1 µg/mL 及び 438 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 77.4 µg/mL 及び 403 µg*hr/mL であった。アコラミジス投与群の曝露量の要約を Table 11 に示す。

Table 11: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	24.9	34.5	-	-
	7	14.5	16.9	109	99.2
100	1	40.4	39.8	-	-
	7	23.5	40.4	136	163
200	1	60.8	65.3	-	-
	7	77.1	77.4	438	403

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
Source: Study 8350153, Table 4.1

3.6 イヌを用いた 7 日間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8355818 試験）

本試験は、イヌへの 7 日間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価することを目的として実施した。

雌雄ビーグル犬を 5 群に割り付け、下表に示す用量、1 日 1 回、7 日間反復経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 12）。

Table 12: Study Design of a 7-day Repeat-dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals	
				M	F
1 (Control) [a]	0	0	5	2	2
2 (Low)	50	10		2	2
3 (Mid)	200	40		2	2
4 (Mid-High)	600	120		2	2
5 (High)	1000	200		2	2

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8355818

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、及び剖検を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} に雌雄差は認められなかったため、結果及び評価には雌雄合算値を使用した。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、50～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴い増加した。アコラミジスの C_{max} は、Day 1 では用量比を下回る増加を示し、Day 7 ではおおむね用量比例的に増加した。AUC_{24h} は、Day 1 及び 7 でおおむね用量比例的な増加を示した。600 又は 1000 mg/kg/日では反復投与によるアコラミジスの曝露量の蓄積性が認められた。

本試験では瀕死が雄 2 例に認められた。1000 mg/kg/日群の雄 2 例を一般状態不良（削痩、活動性低下、及び／又は脱水）により Day 5 に安楽死処分した。雄 1 例ではより重篤な影響がみられ、剖検で空腸の腸重積が観察され、盲腸、結腸、回腸に暗赤色の異常半固形内容物が認められた。これらの瀕死状態は、被験物質の直接毒性ではなく、嘔吐及び無形便／水様便に起因した二次的な脱水及び電解質の変化によるものと考えられた。

被験物質に関連した一般状態の変化として、200 mg/kg/日群で嘔吐及び水様便が認められた。600 mg/kg/日群の雄 1 例では、削痩及び軽度の脱水が認められ、皮下輸液が必要であった。この変化には、投与期間中の体重及び摂餌量の減少との関連性が認められた。1000 mg/kg/日群の雄 2 例においても、早期安楽死処分前に摂餌量の減少が認められた。

投与期間終了時の検査では、600 mg/kg/日群の雄 1 例で、ストレス反応（白血球数、好中球数、及び単球数の高値、並びにリンパ球数、好酸球数、好塩基球数、及び非染色性大型細胞数の低値）及び脱水（尿素窒素及びクレアチニンの高値）に関連した変化が認められた。この動物には、剖検及び臨床検査用採血の前日に、250 mL の乳酸リンゲル液を皮下投与した。この動物の臨床検査値の変化は、アコラミジスに関連した嘔吐及び異常便（無形便／水様便）の二次的変化である可能性が高く、特定の標的器官毒性を示すものではなかった。

投与期間終了時の剖検では、被験物質に関連した変化として、20 mg/kg/日群の雄 1 例の結腸で粘膜の赤色化、600 mg/kg/日群の雄 1 例の空腸で黒色変色が認められた。

以上のとおり、アコラミジスを 50、200、600、及び 1000 mg/kg/日の用量でイヌに 7 日間反復経口投与した結果、200 mg/kg/日群までは良好な忍容性がみられ、600 mg/kg/日群ではおおむね忍容性が認められたが、雄 1 例で削痩及び軽度の脱水、体重及び摂餌量の減少がみられ、症状緩和のために皮下輸液が必要であった。1000 mg/kg/日群では忍容性が認められず、ストレス反応、並びに嘔吐及び無形便／水様便に起因した脱水及び電解質の変化により、Day 5 に雄 2 例を早期安楽死処分した。600 mg/kg/日群でも同様の臨床検査値の変化が認められた。最大耐量（MTD）である 600 mg/kg/日群の Day 7 の血漿中アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄でそれぞれ 325 µg/mL 及び 4320 µg*hr/mL、雌でそれぞれ 525 µg/mL 及び 3440 µg*hr/mL であった。アコラミジス投与群の曝露量の要約を Table 13 に示す。

Table 13: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	33.8	38.2	157	185
	7	34.9	29.5	160	137
200	1	105	111	705	665
	7	71.7	127	440	680
600	1	126	321	1010	2040
	7	325	525	4320	3440
1000	1	276	224	2550	1310
	7	-	455	-	4890

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
Source: Study 8355818 Table 4.1

3.7 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8355825 試験）

本試験は、イヌへの 4 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、2 週間回復性試験により発現した変化の可逆性及び持続性を評価することを目的として実施した。雌雄ビーグル犬を 5 群に割り付け、下表に示す用量を投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 14）。

Table 14: Study Design of a 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with 2-week Recovery Phase

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals [a]	
				M	F
1 (Control) [b]	0	0	5	5	5
2 (Low)	50	10		3	3
3 (Mid)	200	40		3	3
4 (Mid-High)	400	80		3	3
5 (High)	600	120		5	5

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic

[a] Animals designated for the recovery euthanasia (two animals/sex/group in Groups 1 and 5) underwent 2 weeks of recovery following dosing.

[b] Group 1 was administered vehicle control article only.

Source: Study 8355825

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の雌雄差は 2 倍未満であった。すべてのアコラミジス投与群の曝露量の概略を Table 15 に示す。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、50～600 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴う増加を示した。C_{max} 及び AUC_{24h} はおおむね用量比例的増加を示した。イヌでは、アコラミジスの反復投与により潜在的な蓄積性が認められ、400 及び 600 mg/kg/日の用量における平均蓄積係数は C_{max} で 1.27 から 3.35、AUC_{24h} で 1.08 から 4.09 の範囲であった。

600 mg/kg/日群の雄 1 例では、アコラミジスに関連した一般状態の変化として、削痩、活動性低下、脱水、及び体温上昇がみられ、Day 15 に安楽死処分した。これらの変化は被験物質の直接毒性ではなく、嘔吐及び無形便／水様便、並びに食欲不振の二次的変化である脱水、ストレス、及び電解質の変化に起因したものと考えられた。さらに、この動物では病理組織学的変化として心筋壊死が認められた。

生存例の一般状態の変化として、600 mg/kg/日群で、嘔吐、無形便及び水様便が認められた。600 mg/kg/日群の雄及び雌 1 例では体重又は体重増加量の低値との関連性がみられ、摂餌量の低下も時折認められた。しかし、600 mg/kg/日群の数例には補助飼料を供与したため、摂餌量に関する毒性評価には制約があった。50 mg/kg/日以上の群では、投与中に身悶え及び異常発声が認められた。

投与期間終了時の血液学的検査及び血液生化学的検査では、被験物質に関連した影響は認められなかった。血液凝固検査及び尿検査では、600 mg/kg/日群の雄及び 400 mg/kg/日以上の群の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間の軽微な延長、600 mg/kg/日群の雄でフィブリノゲンの軽微な高値、600 mg/kg/日群で尿量の軽度の高値、尿比重の低値、200 mg/kg/日以上の群の雄及び 400 mg/kg/日以上の群の雌で尿 pH の低値が認められた。回復性試験終了時には、600 mg/kg/日群の雌の尿量、雄の尿 pH の変化を除き、全ての臨床検査値の変化には休薬による回復性が認められた。回復性の有無に関わらず、これらの臨床検査値の変化は毒性ではないと考えられ、毒性学的意義はないと判断した。

病理組織学的検査では、400 mg/kg/日以上の群の心臓で軽度から中等度の心筋変性／壊死及び軽度から中等度の単核細胞浸潤、600 mg/kg/日群の雌の心臓で軽度の出血、中等度の線維化が認め

られた。これらの変化は、400 mg/kg 群の雄 3 例中 1 例、雌 3 例中 1 例、600 mg/kg 群の雄 2 例中 2 例、雌 3 例中 2 例に認められた。毒性変化と考えられる心筋変性／壊死に関連して、400 mg/kg/日以上の群の雄で心臓重量の高値が認められた。回復性試験終了時には、600 mg/kg/日群の雄 1 例の心臓で軽度の心筋変性及び中等度の線維化が認められた。

投与期間終了時の病理組織学的検査では、600 mg/kg/日群の胸腺で軽度から中等度のリンパ球減少がみられ、関連する器官重量の変化として胸腺重量の低値が認められた。これらの変化には休薬による回復性が確認された。この変化は被験物質投与に関連した二次的ストレスによるものであり、被験物質との直接の関連はないものと考えられた。

以上のとおり、アコラミジスを 50、200、400、及び 600 mg/kg/日の用量でイヌに 4 週間反復経口投与した結果、400 mg/kg/日群までは忍容性が認められた。600 mg/kg/日群では忍容性がみられず、雄 1 例で被験物質に関連した削痩、活動性低下、脱水、及び体温上昇が認められたため、Day 15 に安楽死処分した。これらの変化は被験物質の直接毒性ではなく、嘔吐及び無形便／水様便、並びに食欲不振の二次的変化である脱水、ストレス、及び電解質の変化に起因したものと考えられた。本試験では、400 mg/kg/日以上の群（安楽死処分例を含む）の心筋変性／壊死は毒性変化と判断した。したがって、本試験の NOAEL は 200 mg/kg/日と考えられた。200 mg/kg/日における Day 28 の血漿中アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄ではそれぞれ 130 µg/mL 及び 796 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 114 µg/mL 及び 607 µg*hr/mL であった（Table 15）。

Table 15: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	33.9	32.6	156	152
	28	42.6	42.0	160	182
200	1	90.9	127	574	775
	28	130	114	796	607
400	1	213	111	1700	935
	28	212	317	1140	1740
600	1	232	176	1700	1700
	28	336	411	1820	2810

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
Source: Study 8355825, Table 4.1

3.8 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、8366847 試験）

本試験は、イヌへの 13 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価するとともに、2 週間回復性試験により発現した変化の可逆性、持続性、及び遅発性を評価することを目的として実施した。

雌雄ビーグル犬を 4 群に割り付け、下表に示す用量を、1 日 1 回、13 週間反復経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 16）。

Table 16: Study Design of a 13-week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered Acoramidis Once Daily by Oral Gavage with a 2-week Recovery Phase

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration [b] (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals [a]	
				M	F
1 (Control)[c]	0	0	5	6	6
2 (Low)	50	10		4	4
3 (Mid)	125	25		4	4
4 (High)	300	60		6	6

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
[a] Animals designated for the recovery euthanasia (two animals/sex/group in Groups 1 and 4) underwent 2 weeks of recovery following dosing.
[b] Concentrations were corrected for lot-specific salt content. A correction factor of 1.12 was used.
[c] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: 8366847

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} の雌雄差は 2 倍未満であった。アコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は、50～300 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴う増加を示した。反復投与による曝露量の蓄積は認められなかった（モジュール 2.6.7.7.7E）。

本試験では、3 例を瀕死のため安楽死処分したが、いずれもアコラミジスに関連した一般状態の変化ではないと考えられた。投与期間中の Day 6 に 125 mg/kg/日群の雄 1 例、Day 55 に 300 mg/kg/日群の雄 1 例、及び Day 80 に 50 mg/kg/日群の雌 1 例を投与後に安楽死処分した。瀕死は、投与

液の吸引又は投与過誤が原因と考えられた。Day 6 に安楽死処分した動物には余剰動物を補充した。

アコラミジスに関連した一般状態の変化として、300 mg/kg/日群で嘔吐／吐物、投与中の身悶え、流涎過多、無形便又は水様便が認められた。125 mg/kg/日群では、投与中の身悶え及び流涎過多が認められた。

50 mg/kg/日以上の群の雄及び 125 mg/kg/日以上の群の雌で、体重増加量の低値が認められた（用量に関係なく約-22%～-33%）。50 mg/kg/日群の雌では、対照群に比較して約 33%の高値であった。摂餌量の変化は認められなかった。

心電図検査では、Day 85 の投与約 2 時間後に、対照群（100 bpm）と比較して 300 mg/kg/日群の雄で心拍数の高値（56%）が認められた。投与開始前の心拍数には大きな変動がみられ、雄では 80～137 bpm、雌では 63～147 bpm であり、投与期間中の Day 85 の対照群の心拍数は雄で 80～127 bpm、雌で 103～141 bpm であったことから、アコラミジスに関連した心拍数への影響を評価することは困難であり、この変化の毒性学的意義は不明であった。125 及び 300 mg/kg/日群の雌で PR 間隔の明らかな短縮、300 mg/kg/日群の雄で QT 間隔の短縮が認められた。回復性試験の Day 12 の検査では、心拍数、PR 間隔、及び QT 間隔に対照群との差は認められなかった。QRS 幅及び QTc 間隔の変化はみられず、アコラミジスに関連した不整脈及び異常波形も認められなかった。

眼科学的検査、臨床検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査で、アコラミジスに関連した異常は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを 50、125、及び 300 mg/kg/日の用量でイヌに 13 週間反復経口投与した結果、良好な忍容性が認められた。瀕死例 3 例（50 mg/kg/日群の雌 1 例、125 mg/kg/日群の雄 1 例、300 mg/kg/日群の雄 1 例）はアコラミジスとの関連性はなく、誤嚥又は投与過誤によるものと考えられた。したがって、本試験の NOAEL は 300 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 91 の C_{max} 及び AUC_{24h} は、雄ではそれぞれ 119 µg/mL 及び 684 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 261 µg/mL 及び 1510 µg*hr/mL であった（Table 17）。

Table 17: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	23.7	44.5	120	197
	91	31.0	49.1	133	241
125	1	55.6	56.9	344	413
	91	97.7	72.5	391	361
300	1	128	170	916	1040
	91	119	261	684	1510

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
Source Data: Study 8366847, Table 4.1

3.9 イヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び TK 試験（GLP 適用、20[redacted]1692 試験）

本試験は、雌雄ビーグル犬への 39 週間反復経口投与によりアコラミジスの毒性及び TK を評価することを目的として実施した（Table 18）。

Table 18: Study Design of a 39-week Study of Acoramidis by Oral Gavage in Dogs with a 28-day Recovery Period

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals			
				Main Study		Recovery Study	
				M	F	M	F
1 (Control) [a]	0	0	5	4	4	2	2
2 (Low)	50	10		4	4	0	0
3 (Mid)	112	22.4		4	4	0	0
4 (High)	250	50		4	4	2	2

Abbreviations: F = Female; M = Male
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 20[redacted]1692

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、トロポニン濃度測定、尿検査）、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査、及び TK 試験を実施し、毒性を評価した。

本試験では、アコラミジスに関連した死亡はみられず、眼科学的検査、トロポニン濃度測定、尿検査、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。

アコラミジスに関連した一般状態の変化として、流涎、吐物、異常物質、及び異常便が認められた。

体重、体重増加量、及び摂餌量にアコラミジスに関連した影響はみられなかった。

心電図検査では、250 mg/kg/日群で心拍数増加及び PR 間隔短縮が認められた。回復性試験期間終了時には、これらの変化は認められなかった（モジュール 2.6.7.7.7F）。

臨床検査で毒性変化は認められなかった。投与期間終了時（Day 274）に、対照群と比較して、250 mg/kg/日群の雄で赤血球数（-12%）、ヘモグロビン（-12%）、ヘマトクリット（-11%）の統計学的有意な低値が認められた。これらの変化は、回復性試験終了時（Day 302）にも認められた。250 mg/kg/日群で総ビリルビンの統計学的有意な低値（雄：-47%、雌：-35%）が認められた。この変化は、回復性試験終了時（Day 302）にも認められた。

以上のとおり、アコラミジスを 50、112、及び 250 mg/kg/日の用量で、イヌに 1 日 1 回、39 週間反復経口投与した結果、良好な忍容性が認められた。全身毒性及び標的器官毒性は認められなかった。したがって、本試験の NOAEL は 250 mg/kg/日と考えられた。Day 273 の 250 mg/kg/日群における C_{max} は、雄で 233 µg/mL、雌で 264 µg/mL、AUC_{last} は、雄で 1040 µg*hr/mL 及び雌で 1310 µg*hr/mL であった（Table 19）。

Table 19: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{last} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
50	1	22.8	26.4	90.1	91.3
	273	48.2	61.0	150	159
112	1	45.8	60.9	238	282
	273	105	118	353	472
250	1	147	146	818	830
	273	233	264	1040	1310

Abbreviations: AUC_{last} = area under the concentration-time curve from hour 0 to the time of the last measurable concentration; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
Source: Study 20[redacted]1692, Appendix 17, Table 7 for Acoramidis toxicokinetic parameters

4 遺伝毒性試験

4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（GLP 適用、8358481 試験）

アコラミジスの変異原性について、代謝活性化系非存在下及び存在下で、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 5 菌株（TA98、TA100、TA1535、TA1537、及び TA102）を用いた復帰突然変異試験により評価した。代謝活性化系には Aroclor 1254 誘発ラット肝臓 S-9 画分（S-9）を使用し、2 回の独立した実験を実施した。

本試験では、無水ジメチルスルホキシドで調製したアコラミジスを使用し、すべての濃度は遊離塩基への換算係数 1.12 を使用して表示した。

実験 1 では、アコラミジスの最終濃度を 5、16、50、160、500、1600、及び 5000 µg/plate とし、媒体対照群及び陽性対照群を設定し、S-9 非存在下及び存在下で実施した。アコラミジスの 5000 µg/plate では、S-9 非存在下及び存在下で TA98、TA100、及び TA102 株、S-9 存在下で TA1537 株で細胞毒性が認められた。

実験 1 の被験物質溶液の分析では、媒体対照群の試料中にアコラミジスが 0.265 mg/mL 濃度で検出された。本実験結果の確認として、同じ処理濃度及び方法により実験 2 を実施した。実験 2 では、S-9 非存在下及び存在下で、すべての菌株の 5000 µg/plate 処理で細胞毒性が認められた。

被験物質は、すべての処理濃度で完全に溶解し析出は認められなかった。

媒体及び陽性対照群をすべての菌株に設定した。媒体対照群の復帰変異コロニー数は試験成立範囲内であり、陽性対照群では復帰変異コロニー数の明らかな増加が認められた。

実験 1 及び 2 の被験物質溶液の分析の結果、目標濃度の 100±10%の濃度範囲内であることが確認され、本試験は許容可能と考えられた。実験 1 では、媒体対照試料でアコラミジスが 0.265 mg/mL 濃度で検出された。実験 2 では、媒体対照試料中にアコラミジスは検出されなかった（モジュール 2.6.7.8.8A）。

2 回の独立した実験では、S-9 非存在下及び存在下のすべての試験菌株で、アコラミジス処理により、媒体対照群に比較して、TA102 株では 1.5 倍以上、TA98 及び TA100 株では 2 倍以上、TA1535 及び TA1537 株では 3 倍以上の復帰突然変異体数の増加は認められなかった。したがって、本試験条件下において、アコラミジスに変異原性はないものと考えられた。

以上のとおり、本試験条件下において、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 5 菌株（TA98、TA100、TA1535、TA1537、及び TA102）におけるアコラミジスの突然変異誘発性はないものと結論付けられた。なお、本試験では、S-9 非存在下及び存在下において、最高濃度：5000 µg/plate（規制ガイドラインの推奨最高用量であり、本試験の毒性用量）で処理した。

4.2 ラットを用いた小核試験及びアルカリコメットアッセイ（GLP 適用、8358482 試験）

本試験では、ラットを用いた骨髄の多染性赤血球（PCE）における小核誘発性、並びにアルカリコメットアッセイにより同動物の肝臓及び胃における DNA 鎖切断の可能性を評価した。

すべてのアコラミジス投与群（用量 : 600、1000、及び 2000 mg/kg を 3 回）の総赤血球中の PCE の割合（%PCE）の増加はみられず、媒体対照群と同等であった。媒体対照群の%PCE は、試験施設の背景値の範囲内であった。したがって、被験物質に関連した骨髄毒性はないものと考えられた（モジュール 2.6.7.8.9A）。

媒体対照群と比較して、すべてのアコラミジス投与群で小核を有する PCE の発現頻度（MN PCE）の統計学的に有意な増加はみられず、媒体対照群と同等であった。媒体対照群の MN PCE は、試験施設の背景値の範囲内であった。

肝臓試料におけるヘッジホッグの顕著な増加はみられず、アコラミジス投与により、コメットアッセイを妨害するような過度の DNA 損傷の誘発がないことが確認された。なお、ヘッジホッグとは、重度の細胞毒性、壊死、又はアポトーシスを伴う高度の細胞傷害を示す細胞形態である。肝臓試料では、すべてのアコラミジス投与群で、媒体対照群と同様のテール輝度を示した。媒体対照群のテール輝度は、試験施設の背景値の範囲内であった。媒体対照群と比較して、すべてのアコラミジス投与群でテール輝度の統計学的に有意な増加は認められなかった。

胃試料では、アコラミジス投与によるヘッジホッグの増加が認められた。しかし、変化の程度は小さく、各群の一部の個体の変化に起因していた。ヘッジホッグの増加は群全体ではなく一部の個体のみでみられたことから、強制経口投与後の過剰／交絡的な DNA 損傷（コメットアッセイを妨害する可能性がある）ではなく、試料作製時の機械的損傷によるものと考えられた。低用量（600 mg/kg/日）群では対照群の約 2 倍のテール輝度がみられたが、中・高用量群では媒体対照群と同様のテール輝度であった。これは、各群の一部の個体（動物番号 R0103、R0206、及び R0302）が背景値の 95%基準値の範囲外のテール輝度を示したことにより、各群の平均テール輝度が増加したものと考える。動物番号 R0103 のテール輝度は背景値（最高値は 5.86）を上回る 19.10 であった。動物番号 R0103 のテール輝度の増加はヘッジホッグの増加を伴うものであり、同群の他の動物のテール輝度は低値（0.30～0.82）であることから、この個体の増加は遺伝毒性によるものではなく、試料作製時の機械的損傷によるものと考えられた。したがって、本試験では、媒体対照群と比較して、被験物質投与群で統計学的に有意なテール輝度の増加はみられず、用量反応性が認められないことから、生物学的意義のある DNA 損傷はないものと判断した。

アコラミジスを 2000 mg/kg/日（規制ガイドラインで推奨する in vivo 遺伝毒性試験の最高用量）までの用量で雄ラットに経口投与した結果、本試験条件下では、骨髄 PCE における小核誘発性はみられず、生物学的意義のある肝臓及び胃における DNA 鎖切断誘発性もないものと結論付けた。

5 がん原性試験

5.1 rasH2 野生型マウスを用いた 4 週間反復投与用量設定試験及び TK 試験（GLP 非適用、8409781 試験）

本試験は、がん原性試験の用量設定に必要な情報、すなわち、過度の毒性及び生存率の低下を誘発しない用量及び TK パラメータを得ることを目的とし、rasH2 野生型マウス（001178-W [wild type], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic）にアコラミジスを 1 日 1 回、4 週間反復経口投与した。

rasH2 野生型雌雄マウスを 4 群に割り付け、下表に示す用量を 10 mL/kg の容量で、1 日 1 回、最長 28 日間、強制経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した。

Table 20: Study Design of Acoramidis Pre-Carcinogenicity 4-week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study in Mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type)

Group No.	Dose (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Number of Animals			
				Main Study		TK Study	
				M	F	M	F
1 (Control)[a]	0	10	0	10	10	3	3
2 (Low)	500		50	10	10	18	18
3 (Mid)	1000		100	10	10	18	18
4 (High)	1500		150	10	10	18	18

Abbreviations: F = Female; M = Male; TK = Toxicokinetic
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8409781

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジスの雌雄合算の TK パラメータには、雌雄別の TK プロファイルの特徴が認められた。アコラミジスの TK パラメータの雌雄差はわずかであった。

Day 28 のアコラミジスの曝露量（C_{max} 及び AUC_t）は、Day 1 と比較して低値であった。Day 1 では、500～1000 mg/kg/日の用量範囲で 2 倍の用量増加にも関わらずアコラミジスの C_{max} は同様であり、1000～1500 mg/kg/日の用量範囲では用量比例的な増加を示した。アコラミジスの AUC_t は、500～1000 mg/kg/日の用量範囲では用量比例的な増加を示した。Day 28 では、C_{max} 及び AUC_t は、500～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量比を下回る増加が認められた。

Day 1 のアコラミジス-AG（アコラミジス代謝物）の TK パラメータに雌雄差は認められなかった。Day 28 の曝露量には雌雄差がみられたが、アコラミジスの用量全体で一貫した差は認められなかった。

アコラミジス-AG の曝露量（C_{max} 及び AUC_t）は、Day 1 と比較して Day 28 で高値であった。Day 1 のアコラミジス-AG の C_{max} は、500～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量比を下回る増加を示し、1000～1500 mg/kg/日の用量範囲では用量比を上回る増加が認められた。AUC_t は、500～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量比を上回る増加を示した。Day 28 の C_{max} 及び AUC_t では、500～1000 mg/kg/日の用量範囲で用量比を上回る増加が認められた。

アコラミジスに関連した体重及び摂餌量の変化は認められなかった。剖検では、アコラミジスに関連した異常は認められなかった。

1500 mg/kg/日群の雄 10 例中 8 例で Day 1 の投与後の一般状態に毒性徴候が認められたことから、すべての動物を安楽死処分した。一般状態の変化として、自発運動低下、運動失調、腹臥位、四肢分離歩行、円背位、立毛、半眼、低体温が認められた。同群の TK 試験群では、背臥位及び努力呼吸も認められた。

1000 mg/kg/日群では、Day 23 に主試験群の雌 1 例及び TK 試験群の雌 1 例が、Day 25 に雄 1 例が死亡した。500 mg/kg/日群の TK 試験群の雄 1 例を、後肢運動の喪失がみられ瀕死状態を呈したため Day 8 に安楽死処分した。1000 mg/kg/日群の主試験群の死亡例（雌雄各 1 例）では、肝臓の

グリコーゲンの軽微な減少が認められた。他の動物に瀕死・死亡はみられず、投与期間終了時まで生存した。

アコラミジスに関連した一般状態の変化として、1500 mg/kg/日群の Day 1 に、自発運動低下、運動失調、腹臥位、四肢分離歩行、円背位、立毛、半眼、及び低体温（冷触感）が認められた。これらの変化は毒性と考えられたため、同群を Day 1 に早期試験終了とした。

血液学的検査では、1000 mg/kg/日群の雄で網赤血球数の軽度の低値及び好中球数の軽度の高値がみられた。これらの変化から炎症が示唆されたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。500 mg/kg/日群の雄、並びに 500 及び 1000 mg/kg/日群の雌では、臨床検査値の変動は認められなかった。

投与期間終了時の病理組織学的検査では、アコラミジスに関連した腎臓及び肝臓の変化が認められた。1000 mg/kg/日群の雄の腎臓で軽微から高度の尿細管変性／再生、500 及び 1000 mg/kg/日群の肝臓でグリコーゲン減少、1000 mg/kg/日群で小葉中心性肝細胞肥大が認められた。肝細胞肥大に関連した器官重量の変化として、1000 mg/kg/日群の雄で肝臓重量の高値が認められた。

アコラミジスに関連した器官重量の変化として、1000 mg/kg/日群の雄で精巣上体及び前立腺重量の高値、及び胸腺重量の低値がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。

以上のとおり、rasH2 野生型雌雄マウスにアコラミジスを 1 日 1 回、4 週間反復経口投与した結果、1000 mg/kg/日以下の群では忍容性が認められた。1500 mg/kg/日群ではアコラミジスの単回投与により毒性変化が認められ、Day 1 に早期試験終了とした。1000 mg/kg/日群では一般状態への明らかな影響はみられなかったが、同群の雄で軽微から高度の尿細管変性／再生が認められた。さらに、アコラミジスとの関連は不明であるが、Week 4 に雌雄各 1 例が死亡した。したがって、26 週間のがん原性試験において、過度の毒性及び生存率低下を誘発しない MTD は 500 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 28 のアコラミジスの C_{max} 及び AUC は、雄ではそれぞれ 378 µg/mL 及び 969 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 271 µg/mL 及び 1310 µg*hr/mL であり、アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC は、雄ではそれぞれ 134 µg/mL 及び 463 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 142 µg/mL 及び 887 µg*hr/mL であった（Table 21）。

Table 21: Overview of Toxicokinetic Data

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC_{0-t} (µg*hr/mL)	
		M	F	M	F
500	1	510	514	1850	2100
	28	378	271	969	1310
1000	1	437	533	3370	4750
	28	558	403	1730	1970
1500	1	666	793	1090	1200
	28	ND	ND	ND	ND

Abbreviations: AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from hour 0 to the time of the last masureble concentration; C_{max} = maximum observed concentration; F = Female; M = Male; ND = Not Determinable; TK = Toxicokinetic
Source: Study 8409781, Table 4.2

5.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験（GLP 適用、8410991 試験）

本試験は、001178-T rasH2 マウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に 26 週間反復経口投与し、アコラミジスのがん原性を評価することを目的として実施した。

雌雄マウスを 5 群に割り付け、下表に示す用量を投与した。媒体対照群及びアコラミジス投与群には 10 mL/kg の容量で 26 週間反復強制経口投与し、媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した。陽性対照群には酸性化生理食塩液（150 mM 塩化ナトリウム及び 15 mM クエン酸ナトリウム含有 RO ろ過水、1N 塩酸で pH 4.5±0.1 に調整）で調製した N-メチル-N-ニトロソウレア（MNU）を、10 mL/kg の容量で Day 1 に単回腹腔内投与した（Table 22）。

Table 22: Study Design of 26-week Oral Gavage Carcinogenicity Study with Acoramidis in 001178-T (Hemizygous) Mice

Group No.	Dose (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Number of Animals	
				M	F
1	0	10	0	25	25
2	30		3	25	25
3	100		10	25	25
4	300		30	25	25
5[a]	75		7.5	10	10

Abbreviations: F = Female; M = Male

[a] Positive control: Group 5 was dosed with one intraperitoneal dose of MNU on Day 1 of the dosing phase. These animals were included as positive controls to ensure animals supplied respond to carcinogenic insult.

Source: Study 8410991

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、がん原性について評価した。

アコラミジスに関連した生存率又は死亡率、一般状態、触知可能な腫瘤、体重及び摂餌量への影響は認められなかった。アコラミジスに関連した腫瘍性病変はみられず、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査で異常は認められなかった（モジュール 2.6.7.9.10B）。

アコラミジス投与群又は媒体対照群では、15 例の瀕死・死亡例が認められた。いずれもアコラミジスに関連した瀕死・死亡とは考えられなかった。一方、陽性対照群ではがん原性を示唆する明らかな反応が認められた。陽性対照群における瀕死・死亡は、主に腫瘍発現に起因したものと考えられた。

以上のとおり、rasH2 雌雄マウスに媒体又はアコラミジスを 30、100、及び 300 mg/kg/日の用量で 26 週間反復経口投与した結果、生存率、死亡率、一般状態、体重、摂餌量への影響は認められなかった。アコラミジスに関連した腫瘍性病変はみられず、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。したがって、アコラミジスにがん原性はないものと考えられた。

5.3 ラットを用いた 104 週間がん原性試験（GLP 適用、8409782 試験）

本試験は、Sprague Dawley ラットに 104 週間反復経口投与し、アコラミジスのがん原性及び TK を評価することを目的として実施した。

雌雄ラットを 4 群に割り付け、下表に示す用量を 10 mL/kg の容量で、1 日 1 回、104 週間反復強制経口投与した。媒体には、RO ろ過水で調製した 0.5w/v%メチルセルロース水溶液を使用した（Table 23）。

Table 23: Study Design of Acoramidis 104-week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats

Group	Dose (mg/kg/day)		Dose Volume (mL/kg)	Dose Concentration (mg/mL)		No. of Animals			
						Carcinogenicity Animals		TK Animals	
	M	F		M	F	M	F	M	F
1 (Control)[a]	0	0	10	0	0	60	60	3	3
2 (Low)	5	40		0.5	4	60	60	6	6
3 (Mid)	15	120		1.5	12	60	60	6	6
4 (High)	50	350		5	35	60	60	6	6

Abbreviations: F = Female; M = Male
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8409782, Section 3.1.5

本試験の用量は雌雄で異なり、ラットを用いた 13 週間（8366846 試験）及び 26 週間（20[redacted]1689 試験）反復投与毒性試験の結果を参考にして設定した。本試験の雄の用量には、5、15、及び 50 mg/kg/日を設定した。高用量（50 mg/kg/日）は、26 週間反復投与毒性試験において統計学的に有意な体重変化がみられたことから選択した。26 週間反復投与毒性試験における雄ラットの Day 1～182 の体重増加量は、対照群と比較して、50 mg/kg/日群で-12.3%、300 mg/kg/日群で-17.8%、及び 600 mg/kg/日群で-29.7%の低値であった。Day 182 の体重は、対照群と比較してそれぞれ-9.1%、-12.8%、及び-20.5%の低値であった。したがって、300 及び 600 mg/kg/日は MTD を超える用量と考え、本試験の高用量には 50 mg/kg/日を選択した。雌の用量は 40、120、及び 350 mg/kg/日とした。26 週間反復投与毒性試験の 600 mg/kg/日群の雌では体重の有意な変化は認められなかった。しかし、13 週間反復投与毒性試験の 1000 mg/kg/日群では、死亡及び体重の低値が認められたことから、600 mg/kg/日が MTD 近似用量であると考えられた。13 週間反復投与毒性試験における中用量は 350 mg/kg/日であることから、この用量を本試験の雌の高用量として選択した。低・中用量には、雌雄共に予想曝露量（AUC）比が約 3 分の 1 となる用量を設定した。

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、器官重量測定、及び病理組織学的検査を実施し、がん原性について評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

アコラミジス投与群では、Day 1 から Day 176 まで、1 日 1 回、反復強制経口投与した結果、アコラミジス及びアコラミジス-AG（代謝物）の曝露が確認された。雌雄に異なる用量を投与したため、アコラミジス及びアコラミジス-AG の曝露量は雌雄別に記載した。

Day 1 及び Day 176 のアコラミジスの t_{max} は、雌雄共に 0.500～1.00 時間、アコラミジス-AG の t_{max} は、雌雄共に 0.500～2.00 時間であった。Day 1 及び Day 176 のアコラミジス及びアコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC は、用量増加に伴う増加が認められた。Day 1 及び Day 176 のアコラミジス曝露量は同様であり、雌雄共に反復投与による循環系におけるアコラミジスの蓄積がほとんどないことが示唆された。一方、350 mg/kg/日群の雌では、アコラミジス-AG の曝露量は Day 1 に比較して Day 176 で高値であり、反復投与による蓄積性が示唆された（Table 24）。

Table 24: Overview of Toxicokinetic Data

Analyte			Acoramidis		Acoramidis -AG	
Group	**Dose (mg/kg/day)**	**Parameter**	**Day 1**	**Day 176**	**Day 1**	**Day 176**
2M	5	t_{max} (h)	1.00	0.500	0.500	0.500
		C_{max} (µg/mL)	4.18	3.94	1.31	0.767
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	55.4	67.3	2.00	0.706
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	55.4	67.3	1.55	0.491
		$t_{1/2}$ (h)	12.3	21.0	ND	ND
		$RAUC_{last}$	1.22		0.317	
3M	15	t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
		C_{max} (µg/mL)	7.40	6.71	4.85	3.76
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	75.4	80.1	9.27	6.97
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	75.4	80.1	8.64	3.45
		$t_{1/2}$ (h)	13.1	20.5	2.82	ND
		$RAUC_{last}$	1.06		0.399	
4M	50	t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
		C_{max} (µg/mL)	37.1	49.1	25.0	19.2
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	109	126	28.2	28.6
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	109	126	27.6	28.6
		$t_{1/2}$ (h)	21.8	30.3	2.00	5.33
		$RAUC_{last}$	1.16		1.03	
2F	40	t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
		C_{max} (µg/mL)	23.4	31.1	7.51	12.0
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	110	89.2	21.4	30.5
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	110	89.2	20.8	26.9
		$t_{1/2}$ (h)	ND	12.9	1.97	ND
		$RAUC_{last}$	0.813		1.29	
3F	120	t_{max} (h)	1.00	1.00	1.00	0.500
		C_{max} (µg/mL)	125	114	32.6	34.1
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	358	302	96.4	121
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	358	302	96.4	121
		$t_{1/2}$ (h)	ND	6.61	ND	ND
		$RAUC_{last}$	0.842		1.26	
4F	350	t_{max} (h)	0.500	0.500	1.00	2.00
		C_{max} (µg/mL)	316	218	70.2	105
		AUC_{24h} (µg*hr/mL)	1210	1250	386	828
		AUC_{last} (µg*hr/mL)	1210	1250	386	828
		$t_{1/2}$ (h)	4.36	3.75	3.33	ND
		$RAUC_{last}$	1.03		2.15	

Abbreviations: AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from hour 0 to the last quantifiable concentration (using the linear trapezoidal method); AUC_{24h} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose (calculated using the linear trapezoidal rule); C_{max} = The maximum observed concentration; ND = Not determinable; RAUC = Accumulation ratio during multiple doses (based on AUC and calculated as AUC_{last} Day 176/AUC_{last} Day 1); t_{max} = Time to maximum observed concentration; $t_{1/2}$ = Half-life
Source: Study 8409782, Section 4.1

アコラミジスに関連した死亡率及び生存率への影響は認められず、がん原性の適切な評価に十分な動物数が生存した。

アコラミジスに関連した一般状態、体重、及び摂餌量への影響は認められなかった。

アコラミジスに関連した非腫瘍性増殖性病変の発現頻度の高値が、副腎皮質及び膵臓で認められた。対照群と比較して、15 mg/kg/日以上の群の雄の副腎皮質で索状帯過形成、15 mg/kg/日群の雄の膵臓で膵島細胞過形成の発現頻度及び重症度の高値が認められた。剖検で関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、アコラミジスに関連した腫瘍性病変は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを雄では 5、15、及び 50 mg/kg/日、雌では 40、120、及び 350 mg/kg/日の用量で反復経口投与した結果、忍容性がみられ、生存率への影響は認められなかった。雄の副腎皮質及び膵臓でアコラミジスに関連した非腫瘍性増殖性病変の発現頻度の高値がみられたが、雌雄共にアコラミジスのがん原性を示唆する腫瘍性病変は認められなかった。したがって、アコラミジスのがん原性に対する NOAEL は雄では 50 mg/kg/日、雌では 350 mg/kg/日と考えられた。この用量における Day 176 の C_{max} 及び AUC_{last} は、雄ではそれぞれ 49.1 µg/mL 及び 126 µg*hr/mL、雌ではそれぞれ 218 µg/mL 及び 1250 µg*hr/mL であった。

6 生殖発生毒性試験

6.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（GLP 適用、20[redacted]3873 試験）

本試験は、アコラミジスを Sprague Dawley（Crl:CD）雌雄ラットの交配前から着床まで反復経口投与し、アコラミジスの毒性を評価することを目的として実施した。本試験の試験デザインは ICH S5[R3]ガイドラインに従って設定し、雌の発情周期、卵管輸送、着床、及び胚発生に対する影響、並びに雄性生殖器の病理組織学的検査では検出できない生殖機能（生殖能又は精巣上体における精子成熟）に対する影響について評価した（Table 25）。

Table 25: Study Design of a Fertility and Early Embryonic Development Study of Acoramidis Administered by Oral Gavage in Rats

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals	
				M	F
1	0	0	10	22	22
2	50	5		22	22
3	350	35		22	22
4	1000	100		22	22

Abbreviations: F = Female; M = Male
Source: Study 20[redacted]3873

1 群雌雄各 22 例、合計雌雄各 88 例の Sprague Dawley（Crl:CD）ラットを 4 群に割り付けた。媒体（0.5w/v%カルボキシメチルセルロース水溶液）又は媒体に懸濁したアコラミジスを 0（対照）、50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で反復強制経口投与した。投与期間は、雄では交配前 28 日間、交配中、及び剖検前日までとし、1 日 1 回、合計 49～52 回投与した。雌では、交配前 15 日間、交配中、及び妊娠 7 日までの期間、1 日 1 回、合計 23～34 回投与した。用量は投与直近の体重により体重換算し、毎日ほぼ同じ時刻に投与した。

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、発情周期、交尾確認、卵巣及び子宮内検査、雄生殖能（精子の運動性及び濃度）、剖検、及び雄性生殖器の重量測定を実施し、評価した。

Day 4、11、及び 29 にアコラミジスに関連した死亡が 1000 mg/kg/日群の雄 3 例に認められた。対照群の雄 1 例を投与過誤により Day 22 に安楽死処分した。雄ではこの他に瀕死・死亡は認められなかった。

アコラミジスに関連した雄の一般状態の変化として、350 及び 1000 mg/kg/日群でラ音、1000 mg/kg/日群で軽度の脱水（皮膚の弾力性に基づく）、流涎過多、粗毛、及び顔面の薄茶変色が認められた。

1000 mg/kg/日群の雄では、対照群と比較して、Day 4～50 に体重の顕著な低値、350 mg/kg/日群では Day 18～50 に体重の顕著な低値が認められた。350 及び 1000 mg/kg/日群では、交配前の期間（Day 1～25）及び投与期間全体（Day 1～50）で体重増加量の顕著な低値が認められた。

1000 mg/kg/日群の雄では、対照群と比較して、交配前期間（Day 1～28）に摂餌量の低値が認められた。

生存例の雄の剖検では、いずれのアコラミジス投与群においても異常は認められなかった。

器官重量の変化として、1000 mg/kg/日群で精嚢及び前立腺絶対重量の統計学的有意な低値、精巣上体及び精巣の相対重量の統計学的有意な高値が認められた。これらの変化は、最終体重の低値の二次的変化と考えられた。

いずれのアコラミジス投与群においても、投与期間終了時の運動精子率及び精巣上体尾部の精子濃度への影響は認められなかった。

すべての雌で死亡は認められなかった。

アコラミジスに関連した雌の一般状態の変化として、350 mg/kg/日以上の群でラ音、1000 mg/kg/日群で流涎過多が交配前及び妊娠期間中に認められた。

1000 mg/kg/日群の雌では、Day 4 に統計学的に有意な体重の低値、Day 1～4 に統計学的に有意な体重減少が認められた。Day 4～8 及び Day 8～15 に体重の有意な高値がみられた。同群では交配前期間（Day 1～15）に体重増加量の高値が認められた。ただし、統計学的有意差は認められなかった。妊娠期間中（妊娠 0～13 日）の母動物の体重及び体重増加量に差は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の雌では、投与期間 1 週（Day 1～8）及び全交配前期間（Day 1～15）で摂餌量の統計学的有意な低値がみられた。同群では、Day 8～15 には摂餌量の統計学的有意な高値が認められた。妊娠期間中（妊娠 0～3 日及び妊娠 3～7 日）の摂餌量に対照群との差は認められなかった。投与期間終了後の妊娠期間（妊娠 7～10 日及び妊娠 10～13 日）に摂餌量の有意な高値がみられたが、全妊娠期間（妊娠 0～13 日）には 4 群の摂餌量に差は認められなかった。

生存例の雌の剖検で異常はみられず、卵巣重量にも影響は認められなかった。雌の交配、受胎能、及び初期胚発生に対するアコラミジスの影響は認められなかった。交配前 14 日間の発情周期の低値（2.18 回、対照群は 3.18 回）、雌 9 例で統計学的に有意な発情間期の延長（6 日以上の発情間期）がみられ、1000 mg/kg/日では統計学的有意差が認められた。いずれも試験施設の背景値の範囲内であったが、統計学的に有意であり、低・中用量群ではみられなかったことから、被験物質に起因した変化と考えられた。発情間期の持続がみられた雌 9 例全例で交尾が確認され、不妊動物は 2 例のみであった。

以上のとおり、アコラミジスを 0（媒体）、50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley ラットに雄では最長 52 日間、雌では最長 36 日間反復経口投与した結果、1000 mg/kg/日群の雄 3 例の死亡が認められた。雄では 350 mg/kg/日までの群で良好な忍容性がみられたが、350 及び 1000 mg/kg/日群ではアコラミジスに関連した一般状態の変化が認められ、350 mg/kg/日群では体重増加量の有意な低値、1000 mg/kg/日では体重増加量及び摂餌量の有意な低値が認められた。雌では、350 及び 1000 mg/kg/日群で一般状態の変化がみられ、1000 mg/kg/日群では交配前期間中の体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。したがって、雄の NOAEL は 50 mg/kg/日、雌の NOAEL は 350 mg/kg/日と考えられた。350 mg/kg/日群の雌ではラ音がみられたが、NOAEL の確定に重要ではない変化と考えられた。

雌雄親動物の生殖毒性に対する NOEL は 1000 mg/kg/日と考えられた。雌雄の交配及び受胎能、並びに初期胚発生に対する被験物質に関連した影響は認められなかった。1000 mg/kg/日群の雌で

交配前期間中に発情間期の延長がみられたが、この変化は試験施設の背景値の範囲内であり、同群の交配及び受胎能への影響は認められなかった。

6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用、8405806 試験）

本試験は、Sprague Dawley 妊娠ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）にアコラミジスを 1 日 1 回反復経口投与（媒体（0.5w/v%メチルセルロース水溶液））し、母動物毒性及び胚・胎児発生に対する潜在的影響を評価することを目的として実施した（Table 26）。

Table 26: Study Design of Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study with Acoramidis in Rats

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals (female)	Dosing Schedule
1 (Control)[a]	0	0	10	6	GD 6 through 17
2 (Low)	50	5		6	
3 (Mid)	350	35		6	
4 (Mid-High)	1000	100		6	

Abbreviations: GD = gestation day
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8405806

本試験では、死亡は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の投与期間中（妊娠 6～18 日）に被験物質に関連した体重、体重増加量、及び摂餌量の低値が認められた。対照群の体重増加量が 111 g であったのに対し、1000 mg/kg/日群では 61g であった。50 及び 350 mg/kg/日群では、体重及び体重増加量に被験物質に関連した影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では被験物質に関連した摂餌量の低値が認められた。1000 mg/kg/日群では、対照群と比較して、投与期間中の摂餌量が-23.1%の低値であった。しかし、投与期間終了後（妊娠 18～21 日）の摂餌量は、対照群に比較して高値であった。50 及び 350 mg/kg/日群では、被験物質に関連した摂餌量に対する影響はみられなかった。

1000 mg/kg/日群では胎児重量に対する被験物質の影響が認められた。1000 mg/kg/日群の胎児重量（雌雄合算）は、対照群に比較して-14%の低値であった。投与期間中の母動物の体重、体重増加量、及び摂餌量への影響により胎児重量の低値が発現した可能性を考量する必要がある。50 及び 350 mg/kg/日群では、子宮内パラメータに対する被験物質の影響は認められなかった。

いずれのアコラミジス投与群においても、母動物の生殖能力、一般状態、及び剖検、並びに胎児検査で異常は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley 妊娠ラットの妊娠 6～17 日に、1 日 1 回、経口投与した結果、1000 mg/kg/日群で被験物質に関連した母動物の体重、体重増加量、及び摂餌量の低値がみられ、胎児で胎児重量の低値が認められた。胎児の外表検査では、いずれのアコラミジス投与群においても外表異常及び変異は認められなかった。50 及び 350 mg/kg/日群では、被験物質に関連した影響は認められなかった。

6.3　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、8411734 試験）

本試験は、アコラミジスを Sprague Dawley 妊娠ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）に 1 日 1 回強制経口投与し（媒体（0.5w/v%メチルセルロース水溶液））、母動物毒性及び胚・胎児発生に対する潜在的な影響、並びに TK を評価することを目的として実施した（Table 27）。

Table 27: Study Design of Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with Acoramidis in Rats

Group	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Number of Animals and Dosing Schedule			
				Main Study		TK Study	
				Mated Females	Dosing Schedule	Mated Females	Dosing Schedule
1 (Control)[a]	0	10	0	22	GD 6 through 17	3	GD 6 through 12
2 (Low)	50		5	22		6	
3 (Mid)	350		35	22		6	
4 (High)	1000		100	22		6	

Abbreviations: GD = gestation day; TK = toxicokinetic
[a] Group 1 (toxicity or TK animals) were administered vehicle control article only.
Source: Study 8411734

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、及び帝王切開を実施し毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

本試験では死亡は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では、投与期間中（妊娠 6～18 日）に、体重、体重増加量、及び摂餌量の低値がみられたが、毒性変化ではないと考えられた。対照群と比較して、1000 mg/kg/日群では妊娠 8～21 日に一貫して統計学的に有意な体重の低値が認められた。さらに、対照群と比較して、投与期間中（妊娠 6～18 日）及び妊娠期間中（妊娠 6～21 日）に体重増加量の統計学的に有意な低値が認められた。投与期間終了後（妊娠 18～21 日）の 1000 mg/kg/日群の体重増加量は対照群と同等であり、同期間の摂餌量は対照群に比較して高値であり軽度のリバウンドが示唆された。投与期間中の体重及び体重増加量の低値は被験物質に関連した変化と考えられたが、投与期間終了後の体重への影響は軽微であり回復性がみられたことから、毒性変化ではないと考えられた（モジュール 2.6.7.13.13A）。

投与期間中の 1000 mg/kg/日群の摂餌量は、対照群と比較して統計学的に有意な低値（-19%）であり、体重の低値に関連していた。しかし、投与期間終了後（妊娠 18～21 日）の 1000 mg/kg/日群の摂餌量にはリバウンドがみられ、対照群と比較して統計学的に有意な高値（+15%）であった。投与期間中の摂餌量の低値は被験物質に関連した変化と考えられたが、軽度の可逆的な変化であることから毒性ではないと判断した。350 mg/kg/日以下の群では体重及び摂餌量に対する被験物質の影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では胎児重量に対する被験物質の影響が認められた。対照群と比較して、アコラミジス投与群では胎児重量（雌雄合算値）の用量依存的な軽度の低値が認められた。1000 mg/kg/日群で認められた変化は、被験物質に関連したものと考えられたが、変化の程度を考慮して毒性ではないと判断した。350 mg/kg/日以下の群では、子宮内パラメータに対する被験物質の影響は認められなかった。

いずれのアコラミジス投与群においても、母動物の生殖能力、一般状態、及び剖検、並びに胎児検査における異常は認められなかった。

TK 試験では、アコラミジス投与群のすべての動物において、妊娠 12 日の投与前から投与 24 時間後までアコラミジスが定量可能であった。50 mg/kg/日群の一部の動物、並びに 350 及び 1000 mg/kg/日群のすべての動物で、投与前から投与 24 時間後まで血漿中アコラミジス-AG が定量可能であった。アコラミジス及びアコラミジス-AG の血漿中濃度は、50 から 1000 mg/kg/日の用量範囲でアコラミジスの用量増加に伴い増加した（Table 28）。

以上のとおり、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley 妊娠ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）に、1 日 1 回、強制経口投与した結果、対照群と比較して、1000 mg/kg/日群で、母動物の体重、体重増加量、及び摂餌量の低値が認められた。1000 mg/kg/日群の胎児では、被験物質に関連した胎児重量の統計学的に有意な低値が認められた。いずれのアコラミジス投与群においても、被験物質に関連した胎児の奇形は認められなかった。50 及び 350 mg/kg/日群では、被験物質の影響は認められず、高用量群の変化は毒性ではないと判断したため、本試験における母動物の一般毒性及び生殖発生並びに胚・胎児発生に対する NOAEL はいずれも 1000 mg/kg/日と考えられ、この用量における妊娠 12 日のアコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} はそれぞれ 281 µg/mL 及び 3720 µg*hr/mL、アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h} は、それぞれ 164 µg/mL 及び 1610 µg*hr/mL であった。

Table 28: Overview of Toxicokinetic Data of Acoramidis

Analyte		Acoramidis		Acoramidis-AG	
Dose (mg/kg/day)	**Study Day**	**C_{max} (µg/mL)**	**AUC_{24h} (µg*hr/mL)**	**C_{max} (µg/mL)**	**AUC_{24h} (µg*hr/mL)**
50	GD 12	23.1	73.5	4.93	12.1
350	GD 12	171	1630	40.7	368
1000	GD 12	281	3720	164	1610

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; GD = gestation day; TK = toxicokinetic
Source: Study 8411734, Table 4.1

6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用、8405805 試験）

本試験は、胚・胎児発生に関する試験の用量設定荷必要な情報を得るために、ニュージーランドホワイト（NZW）妊娠ウサギの器官形成期（妊娠 7～19 日）に、アコラミジスを 1 日 1 回強制経口投与し（媒体（0.5w/v%メチルセルロース水溶液））、忍容性を評価することを目的として実施した（Table 29）。

Table 29: Study Design of Oral Gavage Dose Range-Finding Embryo-Fetal Developmental Study with Acoramidis in Rabbits

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose Formulation Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals (females)	Dosing Schedule
1 (Control)[a]	0	0	5	6	GD 7 through 19
2 (Low)	50	10		6	
3 (Mid)	350	70		6	
4 (High)	1000	200		6	

Abbreviations: GD = gestation day
[a] Group 1 (toxicity or TK animals) were administered vehicle control article only.
Source: Study 8405805

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、及び帝王切開を実施し毒性を評価した。

350 mg/kg/日以上の群では被験物質に関連した母動物の死亡が認められた。1000 mg/kg/日群の6 例中 4 例が妊娠 9 日に死亡した。同群の残りの 2 例では呼吸及び一般状態に異常がみられたため、動物福祉の観点から安楽死処分した。350 mg/kg/日群の 6 例中 5 例では、一般状態の変化として少量糞、削痩、耳介蒼白、及び耳介の冷触感が認められたため、妊娠 13 又は 14 日に瀕死のため安楽死処分した。

アコラミジスに関連した一般状態の変化が、350 mg/kg/日以上の群で認められた。一般状態の変化として、少量糞、呼吸不整又は呼吸音、散瞳、活動性低下、刺激に対する反応低下、側臥位、蒼白、及び／又は冷触感等が認められた。

350 mg/kg/日以上の群で被験物質に関連した体重及び摂餌量の低値が認められた。妊娠 7～8 日の体重減少は対照群では 6 g であったのに対し、1000 mg/kg/日群では 132 g の体重減少が認められた。350 mg/kg/日群では、妊娠 10 日から体重の顕著な減少が認められた。妊娠 13 日の体重は、対照群と比較して-9.6%の低値であった。

妊娠 7～8 日及び妊娠 8～9 日の摂餌量は、1000 mg/kg/日群ではいずれも 0.2 g であったのに対し、対照群ではそれぞれ 135.3 g 及び 130.2 g であった。350 mg/kg/日群の摂餌量は妊娠 7 日からで顕著な減少が認められた。妊娠 7～13 日の同群の摂餌量は、対照群と比較して-73%の低値であった。

剖検では、350 mg/kg/日以上の群で被験物質に関連した変化が認められた。計画外剖検では、1000 mg/kg/日群のすべての動物で胃の異常内容物（黒色、ゼラチン状、及び／又は顆粒状）及び最大 10 mm^3 の多発性又は少数の陥凹領域、350 mg/kg/日群の 2 例で胃の陥凹領域が認められた。

50 mg/kg/日群では死亡はみられず、被験物質に関連した一般状態及び剖検の異常は認められず、母動物の体重、摂餌量、生殖、及び子宮内パラメータに対する影響はみられなかった。50 mg/kg/日群では、胚・胎児毒性はみられず、胎児検査で異常は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で NZW 妊娠ウサギの妊娠 7～19 日に、1 日 1 回、経口投与した結果、350 mg/kg/日以上の群で被験物質に関連した死亡が認められた。1000 mg/kg/日群では一般状態、剖検、体重、及び摂餌量に対するアコラミジスの影響がみられ、妊娠 9 日にすべての動物を安楽死処分した。350 mg/kg/日群の 6 例中 5 例でも同様の変化が認められたため、妊娠 14 日に安楽死処分した。1000 mg/kg/日群の全例及び 350 mg/kg/日群の 2 例の計画外剖検では、胃の異常内容物（黒色、ゼラチン状、及び／又は顆粒状）及び多発性又は少数の陥凹領域が認められた。

350 mg/kg/日以上の群で明らかな毒性変化が認められたことから、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の高用量には 50～350 mg/kg/日が適切と考えられた。

6.5　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（GLP 適用、8411735 試験）

本試験は、NZW 妊娠ウサギの器官形成期（妊娠 7～19 日）に、アコラミジスを 1 日 1 回強制経口投与し（媒体（0.5w/v%メチルセルロース水溶液））、母動物毒性及び胚・胎児発生への影響、並びに TK を評価することを目的として実施した（Table 30）。

Table 30: Study Design of Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with Acoramidis in Rabbits

Group	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. [b, c] (mg/mL)	Number of Animals	Dosing Schedule
1 (Control)[a]	0	5	0	22	GD 7 through 19
2 (Low)	25		5	22	
3 (Mid)	75		15	22	
4 (High)	200		40	22	

Abbreviations: GD = gestation day
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
[b] Concentrations were corrected for lot-specific salt content. A correction factor of 1.14 was used.
[c] Animals were dosed at a dose volume of 5 mL/kg.
Source: Study 8411735

死亡発現状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、及び帝王切開を実施し毒性を評価した。TK 評価のために血液試料を採取した。

本試験では、被験物質に関連した死亡はみられず、一般状態、剖検、生殖及び子宮内パラメータへの影響は認められなかった。被験物質に関連した胎児毒性及び奇形は認められなかった（モジュール 2.6.7.13.13B）。

25 及び 200 mg/kg/日群では、4 例の死亡又は瀕死例（呼吸音、筋緊張低下、及び摂餌量減少がみられ瀕死状態を呈したため安楽死処分）が認められた。一般状態及び剖検の結果から、これらの瀕死・死亡例の 3 例は投与過誤が原因と考えられた。200 mg/kg/日群の 1 例（B0310）では、削痩がみられ、摂餌量減少が数日間持続したため安楽死処分した。同群の他の動物で摂餌量低下及び削痩が認められないことから、被験物質との関連性はないものと考えられた。

いずれのアコラミジス投与群においても、体重及び摂餌量に対する被験物質の影響は認められなかった。25 及び 200 mg/kg/日群では、投与期間中（妊娠 7～20 日）に、対照群と比較して統計学的に有意な体重増加量の低値が認められたが、少数例の動物における変動に起因した変化であり、各群の平均体重への影響は認められなかった。体重増加量の低値は各群の動物特異的変化であり、各群の体重に変化はみられず、用量反応性が認められないことから、被験物質との関連性のない偶発的変化と判断した。

TK 試験では 2～4 群のすべての動物において、妊娠 13 日の投与前から投与 24 時間後までアコラミジスが定量可能であった。2～4 群のすべての動物において、妊娠 13 日の投与 1 時間後から 8 時間後までアコラミジス-AG が定量可能であったが、投与前及び投与 24 時間後は定量下限を下回った。アコラミジス及びアコラミジス-AG の血漿中濃度は、25～200 mg/kg/日の用量範囲でアコラミジスの用量増加に伴い増加した（Table 31）。

以上のとおり、アコラミジスを 25、75、及び 200 mg/kg/日の用量で、妊娠ウサギの器官形成期（妊娠 7～19 日）に、1 日 1 回強制経口投与した結果、いずれの用量においても体重、摂餌量、生殖及び子宮内パラメータ、胚・胎児生存率、及び胎児の形態形成に被験物質に関連した影響は認められなかった。したがって、母動物の一般毒性及び生殖発生並びに胚・胎児に対する NOAEL はいずれも 200 mg/kg/日と考えられ、この用量における妊娠 13 日のアコラミジスの C_{max} 及び AUC_{24h} はそれぞれ 319 µg/mL 及び 1400 µg*hr/mL、アコラミジス-AG の C_{max} 及び AUC_{24h} はそれぞれ 44.6 µg/mL 及び 136 µg*hr/mL であった。

Table 31: Overview of Toxicokinetic Data

Analyte		Acoramidis		Acoramidis-AG	
Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg*hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg*hr/mL)
25	GD 13	19.7	147	0.535	2.35
75	GD 13	117	410	5.35	15.0
200	GD 13	319	1400	44.6	136

Abbreviations: AUC_{24h} = area under the concentration-time curve from hour 0 to hour 24; C_{max} = maximum observed concentration; GD = gestation day; TK = toxicokinetic
Source: Study 8411735, Table 2, Page 779

6.6 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（GLP 適用、8411736 試験）

本試験は、Sprague Dawley 妊娠ラットの着床から離乳までの期間に、アコラミジスを 1 日 1 回、強制経口投与し（媒体（0.5w/v%メチルセルロース水溶液））、妊娠及び授乳中の母動物、並びに F1 動物の成長、生殖機能、及び神経行動学的発達に対する影響を評価することを目的として実施した（Table 32）。

Table 32: Study Design of Oral Gavage Study for Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function, with Acoramidis in Rats

Group	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Number of Animals	Dosing Schedule
1 (Control)[a]	0	10	0	22	GD 6 through LD 20
2 (Low)	50		5	22	
3 (Mid)	350		35	22	
4 (High)	1000		100	22	

Abbreviations: GD = gestation day; LD = lactation day
[a] Group 1 was administered vehicle control article only.
Source: Study 8411736

本試験では、F0 母動物に妊娠 6 日から授乳 20 日まで反復経口投与した。F1 出生児では、生後の身体的発達を離乳前に評価した。離乳時に各同腹児から雌雄各 1 例を選択し、成熟期まで継続した。成熟期には、F1 動物の発達、性成熟、感覚機能、運動機能、学習・記憶、生殖機能（妊娠 13 日に帝王切開）を評価した。

母動物については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、分娩観察、及び剖検を実施し毒性を評価した。

F1 出生児では、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、生後発達、及び神経行動学的検査を実施し毒性を評価した。性成熟の評価項目達成後、F1 雌動物の発情周期を検査した。さらに、F1 雌動物を兄妹交配を避けて同群の F1 雄動物と交配させ、妊娠 13 日に帝王切開・剖検を実施し、生殖パラメータ及び子宮内パラメータを評価した。

1000 mg/kg/日群では母動物 5 例の、死亡、瀕死による安楽死処分例、又は正常な分娩ができなかったことによる試験除外例が認められた。1 例（R0316）では呼吸音及び努力呼吸がみられ瀕死のため妊娠 14 日に安楽死処分した。剖検で異常は認められなかった。1 例（R0307）は、妊娠 23 日の午前中に死亡が確認された。剖検では投与過誤を示唆する変化は認められなかった。他の群で死亡はみられず、同群で体重及び摂餌量への影響が認められていることから、これら 2 例の瀕死・死亡は被験物質に関連したものと考えられた。さらに、3 例（R0310、R0314、R0321）は生存

児の分娩ができなかったため妊娠 24 日に安楽死処分した。剖検では、これらの母動物で全胚吸収が認められ、胚吸収及び分娩異常は被験物質に関連した変化と考えられた（モジュール 2.6.7.14.14A）。

被験物質との関連性のない試験除外例が、対照群の 1 例、50 mg/kg/日群の 2 例、及び 1000 mg/kg/日群の 2 例で妊娠 23 日から授乳 3 日に認められた。これらの動物では、全同腹児死亡又は分娩停止（剖検で非妊娠を確認）のため、試験から除外した。

1000 mg/kg/日群の母動物では、妊娠中の体重及び摂餌量にアコラミジスの影響が認められた。1000 mg/kg/日群の母動物では、妊娠 8～20 日に体重の統計学的に有意な低値がみられ、関連する摂餌量の低値も認められた。いずれのアコラミジス投与群においても、授乳中の体重及び摂餌量にアコラミジスに関連した影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群では、分娩及び同腹児に対するアコラミジスの影響が認められた。1000 mg/kg/日群の母動物 3 例では、分娩停止のために妊娠 24 日に試験から除外した。剖検では完全吸収が認められた。1000 mg/kg/日群の母動物 1 例では、同腹児の 80%の吸収が認められた。吸収が確認された母動物数から、正常満期出産の失敗、分娩児数（生存／死亡／死産を含む）及び出生数の統計学的に有意な低値は、被験物質の影響であり毒性と考えられた。一方、対照群と比較して、1000 mg/kg/日群の着床痕数の統計学的に有意な低値は、交配及び着床は投与期間前の事象であるため、被験物質との関連性はないと考えられた。

350 mg/kg/日以下の群では、母動物の体重、摂餌量、又は分娩状態に対するアコラミジスの影響は認められなかった。いずれの用量においても、母動物の一般状態及び剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の出生児（F1）では、アコラミジスに関連した体重の低値が認められ、毒性と考えられた。1000 mg/kg/日群では、対照群と比較して、生後 1～21 日（離乳）に出生児体重の統計学的に有意な低値が認められた。なお、同群の母動物毒性（摂餌量及び体重増加量の低値）による出生児体重への影響を留意することが必要と考える。対照群と比較して、1000 mg/kg/日群の F1 動物の離乳時体重には、統計学的に有意な低値（雄で-12.3%、雌で-13.1%）が認められた。これらの動物では、離乳時体重の低値が成熟期まで持続した。

離乳後の成熟期間開始から、毒性ではないアコラミジスに関連した体重の低値が認められたが、体重増加量に対照群との差はみられなかった。これらの動物の成熟期間開始時の体重の低値は、離乳前及び離乳時の体重の低値と同様であった。変化の程度及び成熟期まで影響が持続したことから、1000 mg/kg/日群の離乳前の出生児体重の低値は、被験物質に関連した毒性変化と考えられた。1000 mg/kg/日群の F1 動物の離乳時／成熟期間開始時の体重は低値であったが、成熟期間には対照群と同様の体重増加量を示した。したがって、成熟期間開始時の体重の低値はアコラミジスに関連した変化ではあるが、体重増加量への影響が認められなかったことから毒性ではないと判断した。成熟期間 7 日～交配後 0 日の F1 雄動物の体重に対照群との差はみられなかった。成熟期間 14～56 日の F1 雌動物の体重に対照群との差は認められなかった。

50 及び 350 mg/kg/日群の F1 動物では、出生から成熟までの出生児体重に対する被験物質の影響は認められなかった。

350 及び 1000 mg/kg/日群の F1 動物では、アコラミジスに関連した近接刺激及び空間認識（遠方刺激）に対する影響が認められた。対照群と比較して、同群では、逃避台到達時間（潜時）及び軌跡の高値が認められ、学習障害が示唆された。1000 mg/kg/日群の F1 動物では、ほとんどの試行で潜時及び軌跡の雌雄別及び雌雄合算値に統計学的有意な高値が認められ、被験物質に関連

した毒性と考えられる近接刺激及び空間認識の学習障害が示唆された。350 mg/kg/日群の F1 動物では、潜時及び軌跡の雄及び雌雄合算値の高値が認められたが、一過性の変化であり、試行 4 日目までに消失した。これらの変化には用量反応性がみられたことから、350 mg/kg/日群の F1 動物の変化は被験物質の影響と考えられたが、一過性であることから毒性ではないと判断した。50 mg/kg/日群の F1 動物では、学習・記憶に対する影響は認められなかった。

いずれのアコラミジス投与群の F1 動物においても、聴覚性驚愕反射及び自発運動量に対するアコラミジスの影響は認められなかった。

いずれのアコラミジス投与群の F1 動物においても、アコラミジスに関連した死亡及び一般状態の変化はみられず、生後発育、摂餌量、妊娠中体重、発情周期、生殖及び子宮内パラメータ、並びに剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。

以上のとおり、アコラミジスを 50、350、及び 1000 mg/kg/日の用量で、Sprague Dawley 妊娠ラットの妊娠 6 日から授乳 20 日までの期間、1 日 1 回、強制経口投与した結果、1000 mg/kg/日群の F0 及び F1 動物で、アコラミジスに関連した母動物の死亡及び毒性変化が認められた。1000 mg/kg/日群では、母動物の妊娠中に毒性変化が観察された。主な母動物の変化として、体重及び摂餌量の統計学的に有意な低値、並びに吸収の発現頻度の高値、出生児数及び生存児数の低値が認められた。いずれのアコラミジス投与群においても、授乳期間の評価項目に被験物質の影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日群の哺育期間中の F1 動物では、対照群と比較して、体重の統計学的に有意な低値が認められ、離乳後も持続し、毒性変化と考えられた。1000 mg/kg/日群の F1 動物では、離乳の約 2 週間後には対照群と同等の体重増加量が認められた。さらに、1000 mg/kg/日群の F1 動物の神経行動学的検査では、近接刺激及び空間認識に対するアコラミジスの影響が認められ、毒性変化と考えられた。350 mg/kg/日群の F1 動物でも学習障害が認められたが、一過性であり、毒性ではないと判断した。1000 mg/kg/日群の母動物でみられた体重及び摂餌量の毒性変化により、F1 動物に対する影響の解釈に混乱が生じる可能性が考えられた。

いずれの用量においても、アコラミジスに関連した F1 動物の死亡及び一般状態の変化はみられず、生後発育、摂餌量、妊娠中体重、発情周期、生殖及び子宮内パラメータ、並びに剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。

したがって、本試験の F0 母動物の一般毒性及び生殖発生並びに F1 動物に対する NOAEL はいずれも 350 mg/kg/日と考えられた。

7　局所刺激性試験

本剤の臨床投与経路は経口であることから局所刺激性試験は実施しなかった。

8　その他の毒性試験

8.1　BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro NRU 光毒性試験（GLP 適用、20[redacted]8057 試験）

アコラミジスの光毒性について、BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro NRU 光毒性試験により評価した。本試験では、アコラミジス処理 BALB/c3T3 マウス線維芽細胞の UV 非照射下における生存率を、アコラミジス処理細胞の UV 照射下の生存率の相対的低下により、アコラミジスの光毒性を評価した。陽性対照にはプロメタジンを使用した。

本試験条件下において、アコラミジスの光毒性を示唆する反応は認められなかった。

Table 33: Results of Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of Acoramidis in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Test Material	IC_{50} (µg/mL) –UVR [a]	IC_{50} (µg/mL) +UVR [b]	PIF [c]	MPE [d]	Phototoxic Potential	UVR Percent Survival [e]	OD540 [f]
Promethazine	99.763	1.295	77.622	0.526	Phototoxic	92	0.676
Acoramidis (Assay 1)	– [g]	– [g]	1 [h]	0.009	Non-phototoxic	92	0.744
Acoramidis (Assay 2)	– [g]	– [g]	1 [h]	-0.001	Non-phototoxic	85	0.725

Abbreviations: PIF = photoirritancy factor; MPE = mean photo effect; UVR = ultraviolet radiation
[a] -UVR = Cytotoxicity: without UVR exposure.
[b] +UVR = Phototoxicity: with UVR exposure.
[c] The criterion for "phototoxic" is PIF > 5.
[d] The criterion for "phototoxic" is MPE > 0.15.
[e] The criterion is > 80%.
[f] The criterion is ≥ 0.400.
[g] IC_{50} not achieved.
[h] Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated (test article did not show cytotoxicity or phototoxicity), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.
Source: Study 20[redacted]8057, Text Table 2

8.2 アコラミジス不純物の評価

アコラミジスの不純物の潜在的遺伝毒性を in silico 解析により評価した。結果についてはモジュール 3.2.S.3.2.1.4 に記載した。*不純物A は，ICH Q3A（R2）に規定された安全性確認の必要な閾値である 1 日 1.0 mg を超える唯一の不純物である。相補的な 2 つの(Q)SAR 解析法（[redacted] 及び [redacted]）を使用した結果、*不純物A の変異原性は示唆されなかった。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1689 試験）、イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験（20[redacted]1692 試験）、rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験（8410991 試験）及びラットを用いた 104 週間がん原性試験（8409782 試験）の NOAEL における *不純物A の量は、患者平均体重 60 kg のヒトにおけるアコラミジス塩酸塩の最大 1 日用量 1600 mg を投与する場合、適切な体表面積補正係数（マウスは 12.3、ラットは 6.2，イヌは 1.8）に基づいて計算すると、提案する *不純物A の限度値を 2.4～12 倍上回る安全域を示している。

9 考察及び結論

アコラミジスの開発及び承認申請を裏付けるために、ICH M3[R2]に準拠した反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、及び光毒性試験を GLP 適用で実施し包括的に評価した。

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査で認められた心臓の心筋変性／壊死は予期せぬ変化であり、若干低い用量及び曝露量で実施したイヌを用いた 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では同様の変化は認められなかった。39 週間反復投与毒性試験では心臓トロポニン濃度を測定したが、いずれのアコラミジス投与群においても被験物質に関連した心臓への影響を示唆するトロポニンの変化は認められなかった。ラットでは、いずれの試験においても同様の変化は認められなかった。広範な検査により変化の原因は特定できなかったが、公表文献では、

ビーグル犬の心臓では、被験物質の影響と混同する可能性のある偶発的変化又は死後変化がしばしば認められることが報告されている（Sato, 2012; Bodié, 2014; Matsushita, 2015）。イヌを用いた最長 39 週間までの反復投与毒性試験のデータも含めて評価した結果、イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験でみられた心筋変性／壊死は、より長期の反復投与試験では認められず、アコラミジスとの関連性のない偶発的な病理組織学的変化か、高用量を曝露した場合に発現する変化である可能性が高いと判断した。この 4 週間反復投与毒性試験の NOAEL（200 mg/kg/日）におけるアコラミジスの C_{max} 及び AUC は、臨床試験における C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ 9 倍及び 7 倍であった（Table 34）。

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL（250 mg/kg/日）における C_{max} 及び AUC は、健康成人にアコラミジスを 800 mg q12h で投与した際の定常状態における C_{max} 及び AUC の 18～25 倍、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の NOAEL（600 mg/kg/日）における Cmax 及び AUC の 25～33 倍の安全域が認められた（Table 34, Table 35）。

アコラミジスの遺伝毒性については、ICH S2[R1]に従った標準的組合せである in vitro 試験（細菌を用いた復帰突然変異試験）及び 2 種類の in vivo 試験（小核試験［骨髄］及びコメットアッセイ［肝臓及び胃］）により評価した。いずれの試験においても遺伝毒性は陰性であり、ヒトにおける遺伝毒性リスクは低いことが示唆された。

がん原性試験として、マウス用いた 4 週間反復投与用量設定試験、トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、及びラット用いた 104 週間がん原性試験を実施した。マウスを用いた 26 週間のがん原性試験では、アコラミジスに関連した腫瘍性病変はみられず、器官重量、死亡率、剖検、及び病理組織学的検査への影響は認められなかった。したがって、アコラミジスにがん原性はないものと考えられた。ラットを用いた 104 週間がん原性試験では、アコラミジスに関連した死亡率、生存率、一般状態、体重、及び摂餌量への影響はみられず、アコラミジスのがん原性の適切な評価に十分な動物数の生存が認められた。雌雄共に高用量群においても腫瘍性病変は認められず、アコラミジスのがん原性に対する NOAEL は最高用量であった。以上のとおり、アコラミジスのがん原性を示唆する変化は認められなかった。

臨床試験及び承認申請に必要な一連の生殖発生毒性については、ICH S5[R3]に準拠して、ラットを用いた FEED 試験、ラット及びウサギを用いた EFD 試験、並びにラットを用いた PPND 試験により評価した。試験の結果、アコラミジスの雌雄受胎能及び初期胚発生、胚・胎児発生への影響は認められなかった。ラットを用いた PPND 試験では、いずれの用量においても哺育中のパラメータにはアコラミジスの影響は認められなかった。高用量（1000 mg/kg/日）群の F1 動物では体重の低値がみられ離乳後も持続したが、成熟期間開始から約 2 週間後に体重増加量は対照群と同等まで回復した。1000 mg/kg/日群ではアコラミジスに関連した学習障害が示唆された。350 mg/kg/日群の F1 動物においても同様の変化がみられたが、毒性ではないと判断した。F1 動物ではアコラミジスに関連した死亡及び一般状態の変化はみられず、生後発育、摂餌量、妊娠中体重、発情周期、生殖及び子宮内パラメータ、並びに剖検でアコラミジスの影響は認められなかった。EFD 試験及び PPND 試験でみられた 1000 mg/kg/日群の母動物における体重、体重増加量、及び摂餌量の低値による F1 動物への影響により、同群の変化に対する解釈を混乱させる可能性が考えられた。

BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro NRU 光毒性試験では、アコラミジスの光毒性はみられず、ヒトにおける安全性上のリスクは低いものと考えられた。

アコラミジス不純物の in silico 解析により、遺伝毒性の可能性が低いことが示唆された。

2 試験の臨床試験におけるヒト PK パラメータ（C_{max} 及び AUC）と毒性試験の曝露量から算出した安全域を Table 34 及び Table 35 に示す。アコラミジスの毒性試験の結果から予定臨床曝露量における広い安全域が示され、有害事象発現の可能性が低いことが示唆された。

以上のことから、これらの非臨床試験成績はアコラミジスの高い安全性を示しており、予定臨床曝露量における有害事象発現の可能性が低いことが示唆されることから、本剤の新薬承認申請を支持するものと考える。

Table 34: Toxicology Studies and Safety Margin Calculations for Total Acoramidis Using Exposures from 800 mg Human Dose (Clinical Study AG10-001)

Type of Study (Study Number)	Animal Exposure at NOAEL [a]		Human Exposure at 800 mg Dose [b]		Safety Margin [c]	
	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg*hr /mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{tau} (µg*hr/mL)	C_{max} (fold)	AUC (fold)
4-week Oral Rat (8355824) NOAEL: 1000 mg/kg/day, Day 26 values	321	4820	13.7	47.2	23	51 [f]
13-week Oral Rat (8366846) NOAEL: 350 mg/kg/day, Day 91 values	303	2010			22	21 [f]
26-week Oral Rat (20[redacted]1689) NOAEL: 600 mg/kg/day, Day 182 values	337	3140 [d]			25	33 [f]
4-week Oral Dog (8355825) NOAEL: 200 mg/kg/day, Day 28 values	122	702			9	7 [f]
13-week Oral Dog (8366847) NOAEL: 300 mg/kg/day, Day 91 values	196	1130			14	12 [f]
39-week Oral Dog (20[redacted]1692) NOAEL: 250 mg/kg/day, Day 273 values	248	1170 [e]			18	25 [g]
EFD Rat (8411734) NOAEL: 1000 mg/kg/day for both- maternal & embryo fetal development, Gestation Day 12 values	281	3720			21	39 [f]
EFD Rabbit (8144735) NOAEL: 200 mg/kg/day for both- maternal & embryo fetal development, Gestation Day 13 values	319	1400			23	15 [f]
PPND Rat (8411736) NOAEL: 350 mg/kg/day for F0 maternal animals and prenatal and postnatal development	353[h]	1940[h]			26	21[f]

Abbreviations: EFD = embryo fetal development; NOAEL = no observed adverse effect level;
PPND = pre- and postnatal development

[a] The Animal exposure values of C_{max} and AUC are combined for both genders for rat, and dog toxicology studies.

[b] The average human exposure PK parameters of Acoramidis were obtained from clinical study AG10-001 (MAD) in healthy subjects following administration of 800 mg dose every 12 hours for 12 days. PK measurements on Day 12. $AUC_{tau} = AUC_{12}$.

[c] Safety Margins were calculated at NOAEL (ratio of animal to human values).

[d] $AUC_{last} = AUC_{24h}$.

[e] $AUC_{last} = AUC_{12}$.

[f] Fold AUC exposure calculated as Animal AUC_{24h}/(Human AUC_{tau} * 2).

[g] Fold AUC exposure calculated as Animal $AUC_{0\text{-}12}$/Human AUC_{tau}.

[h] Day 91 values for females from 13-week oral rat Study 8366846.

Table 35: Chronic Toxicology Studies and Safety Margin Calculations for Total Acoramidis Using Exposures from 2000 mg Human Dose (Clinical Study AG10-005)

Type of Study (Study Number)	Animal Exposure at NOAEL [a]		Human Exposure at 2000 mg Dose [b]		Safety Margin[c]	
	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg*hr/mL) [d]	C_{max} (µg/mL)	AUC_{24h} (µg*hr/mL)	C_{max} (fold)	AUC (fold)
26-week Oral Rat (20[redacted]1689) NOAEL: 600 mg/kg/day, Day 182 values	337	3140	18.1	73	19	43
39-week Oral Dog (20[redacted]1692) NOAEL: 250 mg/kg/day, Day 273 values	248	1170			14	16

[a] The Animal exposure values of C_{max} and AUC are combined for both genders for rat and dog toxicology studies.
[b] The average human exposure PK parameters of Acoramidis were obtained from clinical study AG10-005 in healthy subjects, following a single oral dose of 2000 mg (Cohort 3) and represents the highest single dose of Acoramidis evaluated in any clinical study.
[c] Safety Margins were calculated at NOAEL (ratio of animal to human values).
[d] For the 26-week rat study, $AUC_{last} = AUC_{24h}$; for the 39-week dog study, $AUC_{last} = AUC_{12}$.

10 参考文献

Bodié K, Decker JH. Incidental histopathological findings in hearts of control beagle dogs in toxicity studies. Toxicol Pathol. 2014;42(6):997-1003. doi: 10.1177/0192623313508480

Chang L, Munro SLA, Richardson SJ, et al. Evolution of thyroid hormone binding by transthyretins in birds and mammals. Eur J Biochem. 1999;259(1-2):534-542.

Cody V. Mechanisms of molecular recognition: crystal structure analysis of human and rat transthyretin inhibitor complexes. Clin Chem Lab Med. 2002;40(12):1237-1243.

ICH M3[R2]. *Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. FDA-2008-D-0470*. 2010.
ICH S2[R1]. *Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use (FDA-2008-D-0178)*. 2012.
ICH S5[R3]. *Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals (FDA-2017-D-5138)*. 2020.

Matsushita K, Kohara Y, Ito Y, et al. A case of spontaneous myocardial necrosis and cerebral ischemic lesions in a laboratory beagle dog. J Toxicol Pathol. 2015;28(4):233-236. https://doi.org/10.1293/tox.2015-0024

Miller M, Pal A, Albusari W, et al. Enthalpy-driven stabilization of transthyretin by AG10 mimics a naturally occurring genetic variant that protects from transthyretin amyloidosis. J Med Chem. 2018;61:7862-7876. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00817

Sato J, Doi T, Wako Y, et al. Histopathology of incidental findings in beagles used in toxicity studies. J Toxicol Pathol. 2012;25:103-134. https://doi.org/10.1293/tox.25.103

Wojtczak A, Cody V, Luft JR, et al. Structure of rat transthyretin (rTTR) complex with thyroxine at 2.5 Å resolution: first non-biased insight into thyroxine binding reveals different hormone orientation in two binding sites. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2001;57:1061-1070.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 3
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 6
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 7
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 9
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY 11
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 12
2.6.7.7 REPEAT-DOSE TOXICITY: PIVOTAL STUDIES 13
7A Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 4-week Rat 13
7B Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 13-week Rat 17
7C Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 26-week Rat 23
7D Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 4-week Dog 26
7E Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 13-week Dog 33
7F Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 39-week Dog 36
2.6.7.8. Genotoxicity: In Vitro 39
8A Genotoxicity In Vitro: Bacterial Mutation Test 39
2.6.7.9. Genotoxicity: In Vivo 41
9A Genotoxicity In Vivo: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay 41
2.6.7.10. Carcinogenicity 42
10A Pre-Carcinogenicity (Nonpivotal): 4-week Mouse 42
10B Carcinogenicity (Pivotal): 26-week Mouse 43
10C Carcinogenicity (Pivotal): 104-week Rat 44
2.6.7.11. Reproductive and Developmental Toxicity (Nonpivotal Studies) 47
2.6.7.12. Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Pivotal) 48
2.6.7.13. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on EmbryoFetal Development (Pivotal) 52
13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development in Rats 52
13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development in Rabbits 54
2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (Pivotal) 56
14A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development in Rats 56
2.6.7.15. Studies on Juvenile Animals 61
2.6.7.16. Local Tolerance 61
2.6.7.17. Other Toxicity Studies 62
17A Other Toxicity: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of Acoramidis in BALB/c 3T3

Mouse Fibroblasts 62

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

.

Test Article: Acoramidis (AG10)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP Compliance[b]	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Repeated-Dose Toxicity							
7-day/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	7 days	0, 100, 400, 600, 1000	No	[redacted]	8355817	4.2.3.2-1
4-week/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	28 days	0, 50, 200, 600, 1000	Yes	[redacted]	8355824	4.2.3.2-2
13-week/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	0, 50, 350, 1000	Yes	[redacted]	8366846	4.2.3.2-3
26-week/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	26 weeks	0, 50, 300, 600	Yes	[redacted]	20[redacted]1689	4.2.3.2-4
7-day/dog/beagle	Oral gavage	7 days	0, 50, 100, 200	No	[redacted]	8350153	4.2.3.2-5
7-day Dose-Range-Finding/ dog/beagle	Oral gavage	7 days	0, 50, 200, 600, 1000	No	[redacted]	8355818	4.2.3.2-6
4-week/dog/beagle	Oral gavage	28 days	0, 50, 200, 400, 600	Yes	[redacted]	8355825	4.2.3.2-7
13-week/dog/beagle	Oral gavage	13 weeks	0, 50, 125, 300	Yes	[redacted]	8366847	4.2.3.2-8

Test Article: Acoramidis (AG10)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP Compliance[b]	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
39-week/dog/beagle	Oral gavage	39 weeks	0, 50, 112, 250	Yes	[redacted]	20[redacted]1692	4.2.3.2-9
Genotoxicity							
Bacterial reverse mutation assay *S. typhimurium*	In vitro (plate incorporation)	2 to 3 days	5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate (± S-9)	Yes	[redacted] England	8358481	4.2.3.3.1-1
Micronucleus and alkalin Comet assay/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	3 days	0, 600, 1000, 2000	Yes	[redacted] England	8358482	4.2.3.3.2-2
Carcinogenicity							
4-week Dose-Range-Finding/ mouse/RasH2 (001178-W [wild type], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic)	Oral gavage	28 days	0, 500, 1000, 1500	No	[redacted]	8409781	4.2.3.4.2-1
26-week carcinogenicity/mouse/ RasH2 (001178-T [hemizygous], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic)	Oral gavage	26 weeks	30, 100, 300	Yes	[redacted]	8410991	4.2.3.4.2-2
104-week carcinogenicity/ rat/Sprague Dawley	Oral gavage	104 weeks	Male: 0, 5, 15, 50 Female:0, 40, 120, 350	Yes	[redacted]	8409782	4.2.3.4.1-1

Test Article: Acoramidis (AG10)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP Compliance[b]	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD
Reproductive and Development Toxicity							
Fertility and early embryonic development/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 49-52 days Females: 23-36 days	0, 50, 350, <u>1000</u>	Yes	[redacted]	20[redacted]3873	4.2.3.5.1-1
Dose-Range-Finding Embryo-Fetal development/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	12 days (GD 6 through 17)	0, 50, 350, 1000	No	[redacted]	8405806	4.2.3.5.2-1
Embryo-Fetal development/rat /Sprague Dawley	Oral gavage	12 days (GD 6 through17)	0, 50, 350, <u>1000</u>	Yes	[redacted]	8411734	4.2.3.5.2-2
Dose-Range-Finding Embryo-Fetal/rabbit/New Zealand White (Pregnant females)	Oral gavage	13 days (GD 7 through 19	0, 50, 350, 1000	No	[redacted]	8405805	4.2.3.5.2-3
Embryo-Fetal development/rabbit/New Zealand White (Pregnant females)	Oral gavage	13 days (GD 7 through 19	0, 25, 75, <u>200</u>	Yes	[redacted]	8411735	4.2.3.5.2-4
Pre- and post-natal development/rat/Sprague Dawley	Oral gavage	(GD 6 to LD 20)	0, 50, <u>350</u>, 1000	Yes	[redacted]	8411736	4.2.3.5.3-1
Phototoxicity							
BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In vitro (cell culture)	90 minutes	1.78-100 µg/mL	Yes	[redacted]	20[redacted]8057	4.2.3.7.7.1-1

Abbreviations: GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = lactation day; MTD = Maximum tolerated dose.

[a] Unless otherwise specified. For Repeated-Dose Toxicity,Carcinogenecity or Reproductive and Development Toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) or Maximum Tolerated Dose (MTD) is underlined.

[b] Indicates study includes a GLP Compliance statement.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: Acoramidis (AG10)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	GLP Compliance[a]	Study Number	Location in eCTD
Pre-carcinogenicity 4-Week Dose-Range-Finding Toxicity	Mouse	Oral Gavage	0, 500, 1000, 1500	No	8409781	4.2.3.4.2-1
7-Day Repeat Dose Toxicity	Rat	Oral Gavage	0, 100, 400, 600, 1000	No	8355817	4.2.3.2-1
4-Week Repeat Dose Toxicity	Rat	Oral Gavage	0, 50, 200, 600, 1000	Yes	8355824	4.2.3.2-2
13-Week Repeat Dose Toxicity	Rat	Oral Gavage	0, 50, 350, 1000	Yes	8366846	4.2.3.2-3
26-Week Repeat Dose Toxicity	Rat	Oral Gavage	0, 50, 300, 600	Yes	20[redacted]1689	4.2.3.2-4
Embryofetal Development Toxicity	Rat	Oral Gavage	0, 50, 350, 1000	Yes	8411734	4.2.3.5.2-2
104-Week Carcinogenicity	Rat	Oral Gavage	Male: 5, 15, 50 Female: 40, 120, 350	Yes	8409782	4.2.3.4.1-1
7-Day Repeat Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	0, 50, 100, 200	No	8350153	4.2.3.2-5
7-Day Repeat Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	0, 50, 200, 600, 1000	No	8355818	4.2.3.2-6
4-Week Repeat Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	0, 50, 200, 400, 600	Yes	8355825	4.2.3.2-7
13-Week Repeat Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	0, 50, 125,300	Yes	8366847	4.2.3.2-8
39-Week Repeat Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	0, 50, 112, 250	Yes	20[redacted]1692	4.2.3.2-9
Embryofetal Development Toxicity	Rabbit	Oral Gavage	0, 25, 75, 200	Yes	8411735	4.2.3.5.2-4

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practice

[a] Indicates study includes a GLP compliance statement.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Species	**Steady State AUC_{0-24} (µg*hr/mL)[a]**												
	Mouse	**Rat**						**Dog**					**Rabbit**
Method of Administration	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage
Study Number	8409781	8355817	8355824	8366846	20[redacted]1689	8411734	8409782	8350153	8355818	8355825	8366847	20[redacted]1692	8411735
Gender (M/F)/ Number of animals in the TK group	3-18M/ 3-18F	3-9M/ 3-9F	3-6M/ 3-6F	3-6M/ 3-6F	3-6M/ 3-6F	3-6F	3-6M/ 3-6F	2-6M/ 2-6F	2M/2F	3-5M/ 3-5F	4-6M/ 4-6F	4-6F/ 4-6F	22F
Dose (mg/kg/day)	500, 1000, 1500	100, 400, 600, 1000	50, 200, 600, 1000	50, 350, 1000	50, 300, 600	50, 350, 1000	Male: 5, 15, 50 Female: 40, 120, 350	50, 100, 200	50, 200, 600, 1000	50, 200, 400, 600	50, 125, 300	50, 112, 250	25, 75, 200
5							67.3 (M)						
15							80.1 (M)						
25													147 (F)
40							89.2 (F)						
50			145 (M) 123 (F)	208 (M) 282 (F)	141 (M) 171 (F)	73.5 (F)	126 (M)	109 (2M) 99.2 (2F)	160 (2M) 137 (2F)	160 (3M) 182 (3F)	133 (4M) 241 (3F)	150 (4M) 159 (3F)	
75													410 (F)
100		234 (M) 350 (F)						136 (2M) 163 (2F)					
112												353 (4M) 472 (3F)	
120							302 (F)						

Species	Steady State AUC_{0-24} (µg*hr/mL)[a]												
	Mouse	Rat						Dog					Rabbit
125											391 (4M) 361 (4F)		
200			562 (M) 1060 (F)					438 (6M) 403 (6F)	440 (2M) 680 (2F)	796 (3M) 607 (3F)			1400 (F)
250												1040 (5M) 1310 (5F)	
300					1560 (M) 1930 (F)						684 (5M) 1510 (6F)		
350				2080 (M) 1940 (F)		1630 (F)	1250 (F)						
400		1310 (M) 1680 (F)								1140 (3M) 1740 (3F)			
500	969 (M) 1310 (F)												
600		2050 (M) 2650 (F)	1810 (M) 2810 (F)		2780 (M) 3490 (F)				4320 (2M) 3440 (2F)	1820 (5M) 2810 (5F)			
1000	1730 (M) 1970 (F)	3220 (M) 4030 (F)	5180 (M) 4460 (F)	4190 (M) 4670 (F)		3720 (F)			4890 (2F)				
1500	ND												

Abbreviations: TK = Toxicokinetics; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; M = male; F = female; ND = Not determinable.
a AUC_{0-12} is shown for study 20[redacted]1692.

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Acoramidis (AG10)

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (Area %)	Study Number	Title of Study
[redacted]	99.87%	0.13%	8355824	A 4-week toxicity and toxicokinetic study in rats administered AG10 once daily by oral gavage with a 2-week recovery phase
[redacted]	99.87%	0.13%	8355825	A 4-week toxicity and toxicokinetic study in dogs administered AG10 once daily by oral gavage with a 2-week recovery phase
[redacted]	99.87%	0.13%	8355826	Cardiovascular Safety Pharmacology Evaluation of AG10 Administered by Oral Gavage to Male Telemetry-Instrumented Conscious Dogs
[redacted]	99.87%	0.13%	8355819	Respiratory Safety Pharmacology Evaluation Using Head-Out Plethysmography of AG10 following Oral Administration to Male Rats
[redacted]	99.87%	0.13%	8355820	Central Nervous System Safety Pharmacology Evaluation of AG10 following Oral Administration to Male Rats
[redacted]	99.87%	0.13%	[redacted]0111.DPW	Effect of AG-10 on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Human Embryonic Kidney Cells
[redacted]	99.87%	0.13%	8358481	AG10: Bacterial Reverse Mutation Assay
[redacted]	99.99%	0.01%	8358482	AG-10: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay
[redacted]	100.0%	0.0%	20[redacted]8057	Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of AG10 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts
[redacted]	99.6%	0.33%	8366846	A 13-week toxicity and toxicokinetic study in rats administered AG10 once daily by oral gavage with a 2-week recovery phase
[redacted]	99.6%	0.33%	8366847	A 13-week toxicity and toxicokinetic study in dogs administered AG10 once daily by oral gavage with a 2-week recovery phase
[redacted]	98.85%	1.15%	20[redacted]1689	A 26-week study of AG10 by oral gavage in rats with a 28-day recovery period

Test Article: Acoramidis (AG10)

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (Area %)	Study Number	Title of Study
[redacted]	98.85%	1.15%	20[redacted]1692	A 39-week study of AG10 by oral gavage in dogs with a 28-day recovery period
[redacted]	98.85%	1.15%	8405805	Oral gavage dose range-finding embryo-fetal developmental study with AG10 in rabbits
[redacted]	98.85%	1.15%	8405806	Oral gavage dose range-finding embryo-fetal development study with AG10 in rats
[redacted]	98.85%	1.15%	20[redacted]3873	A fertility and early embryonic development study of AG10 administered by oral (gavage) in rats
[redacted]	98.7%	1.3%	8411734	Oral gavage embryo-fetal development and toxicokinetic study with AG10 in rats
[redacted]	98.7%	1.3%	8411735	Oral gavage embryo-fetal developmental and toxicokinetic study with AG10 in rabbits
[redacted]	98.7%	1.3%	8411736	Oral gavage study for effects on prenatal and postnatal development, including maternal function, with AG10 in rats
[redacted]	98.85%	1.15%	8409781	AG10: Pre-carcinogenicity 4-week oral gavage dose range-finding toxicity and toxicokinetic study in mice (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic: Wild Type)
[redacted]	98.7%	1.3%	8410991	26-Week oral gavage carcinogenicity study with AG10 in 001178-T (Hemizygous) mice
[redacted]	98.7%	1.3%	8409782	AG10: 104-Week oral gavage carcinogenicity and toxicokinetic study in Sprague Dawley rats

Abbreviations: hERG = human Ether-à-go-go-Related Gene

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

No single-dose studies have been conducted with acoramidis.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Acoramidis (AG10)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL or MTD	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/ Sprague Dawley	Oral (gavage)/ (0.5% MC in RO water)	7 days	0, 100, 400, 600, 1000	5M, 5F	NOAEL 1000	A lack of body weight gain for male and female rats administered 1000 mg/kg during the first half of the dosing phase (Days 1 to 4) was test article related, but was considered not adverse based on rebounding body weight gains during the second half of the dosing phase (Days 4 to 7). NOAEL established at 1000 mg/kg/day.	8355817
Dog/ beagle	Oral (gavage)/ (0.5% MC in RO water)	7 days	0, 50, 100, 200	6M, 6F 2M, 2F 2M, 2F 6M, 6F	NOAEL 200	Acoramidis related non-adverse clinical observations included an increased incidence of nonformed or liquid feces in males given 100 mg/kg/day and all animals administered 200 mg/kg/day. The finding remained present during the recovery phase.	8350153
Dog/ beagle	Oral (gavage)/ (0.5% MC in RO water)	7 days	0, 50, 200, 600, 1000	2M, 2F	MTD 600	Acoramidis-related clinical observations in animals administered ≥ 200 mg/kg/day included vomitus and/or liquid feces. Both males administered 1000 mg/kg/day were euthanized on Day 5 due to poor condition, including thin appearance, hypoactivity, and/or dehydration. These deaths were considered not due to direct test article toxicity, but due to secondary dehydration and electrolyte changes caused by vomiting and liquid/nonformed feces.	8355818

Abbreviations: M = male; F = female; MC = methyl cellulose; MTD = Maximum tolerated dose; NOAEL = No observed adverse effect level; RO = reverse osmosis

2.6.7.7 REPEAT-DOSE TOXICITY: PIVOTAL STUDIES

7A Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 4-week Rat

Report Title: A 4-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-Week Recovery Phase		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Study No.** 8355824
Initial Age: 6-7 weeks old	**Duration of Postdose:** 2 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle Control Article: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis (RO) water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**600 (Mid High)**		**1000 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	10	10	10	10	10	10	15	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	3	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase										
Toxicokinetics:										
Day 1										
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLQ	BLQ	110	110	334	624	1260	2300	2440	3170
C_{max} (µg/mL)	BLQ	BLQ	11.3	40.4	69.3	127	145	254	172	280
Day 26										
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLQ	BLQ	145	123	562	1060	1810	2810	5180	4460
C_{max} (µg/mL)	BLQ	BLQ	35.7	68.6	130	294	216	378	356	364
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund[a]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**600 (Mid High)**		**1000 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Body Weight (%)[b]										
Day 8	261 g	-	1.5	-	0.4	-	0.0	-	-4.2	-
Day 15	313 g	-	1.0	-	-0.3	-	0.0	-	-7.3*	-
Day 22	358 g	237 g	0.8	1.7	-0.8	1.3	-2.2	3.4	-9.8*	-5.9
Day 28	386 g	253 g	2.3	1.2	-0.3	-0.8	-1.0	2.8	-12.4*	-8.3*
Body Weight Change (g)										
Days 8-15	52	-	51	-	49	-	53	-	40*	-
Days 15-22	45	18	45	18	43	18	37	16	33*	11*
Days 22-28	28	16	34	16	30	12	32	15	15*	9*
Food Consumption (%)[b]										
Days 1-8	27 g/ animal/day	-	7.4	-	3.7	-	3.7	-	-7.4	-
Days 22-28	27 g/ animal/day	-	7.4	-	0.0	-	7.4	-	-11.1	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry - Day 29										
Urea Nitrogen (mg/dL)	12	15	11	14	10*	12*	8*	9*	8*	8*
Glucose (mg/dL)	80	86	81	93	73*	82	53*	68*	42*	54*
Total protein (g/dL)	6.6	7.3	6.9	7.6	6.8	7.3	6.6	7.2	6.5	6.8*
Albumin (g/dL)	4.3	4.9	4.4	5.0	4.4	4.8	4.5*	4.8	4.6*	4.7
Globulin (g/dL)	2.3	2.4	2.5	2.6	2.3	2.4	2.1*	2.4	1.9*	2.1*
Albumin:globulin ratio	1.9	2.0	1.8	2.0	1.9	2.0	2.2*	2.0	2.5*	2.3*
Alkaline phosphatase (U/L)	181	95	185	104	192	113	201	117	246*	114
Chloride (mmol/L)	101	101	100	101	100	101	98*	98*	94*	96*

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50 (Low)		200 (Mid)		600 (Mid High)		1000 (High)	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Urinalysis - Day 29										
Urine Volume (mL)	12.3	5.7	9.7	11.6	26.4*	25.6*	33.6*	29.0*	30.6*	28.6*
Specific Gravity	> 1.028	> 1.036	> 1.033	> 1.028	1.014	1.012	1.014	1.012	> 1.017	1.012
Urine pH	6.8	6.7	6.7	6.6	6.8	6.6	6.4*	6.5	6.1*	6.3
Urine White Blood Cells[c]										
0 (None seen)	11	11	7	4	6	6	4	1	5	2
1 (1 to 5)	4	3	3	6	4	4	6	9	8	8
2 (6 to 10)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5
Urine Ketones										
Negative	2	12	1	10	7	10	3	10	4	14
Trace (5 mg/dL)	4	3	6	0	3	0	5	0	0	0
1+ (15 mg/dL)	9	0	3	0	0	0	1	0	5	1
2+ (40 mg/dL)	0	0	0	0	0	0	1	0	5	0
3+ (≥ 80 mg/dL)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Organ Weights										
Liver										
Absolute Organ Weight (%)[b]	9.4474 g	6.9325 g	7.4	-1.2	6.7	-2.8	24.8*	19.8*	24.3*	21.9*
Organ to Body Weight (%)	2.7468	3.0573	2.8000	2.9617	2.8572	2.9506	3.3968*	3.5314*	3.9046*	4.0914*
Organ to Brain Weight (%)	466.0520	349.8976	501.5647	357.3027	495.2128	347.8310	567.7293*	438.3639*	573.1294*	436.1786*
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
Number of Animals Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver										
Hypertrophy, hepatocellular										
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	0	6	3

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

ALXN2060 ATTR-CM

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**600 (Mid High)**		**1000 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Kidney										
Vacuolation, tubule cell										
Minimal	0	0	0	3	0	3	9	6	7	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	3	1	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Recovery Phase										
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	5	0	0	0	0	0	0	5	5
Body Weight (%)[b]										
Day 1	372 g	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-14.5*	-
Day 8	437 g	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-13.0*	-
Day 14	473 g	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-11.6*	-
Histopathology										
Liver										
Hypertrophy, hepatocellular										
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0

Abbreviations: - = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BLQ = Below the lower limit of quantitation (< 0.200 µg/mL); C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable

* = Statistically significant ($p \leq 0.05$) based on actual data (not on percent difference)

a On Day 4 of the dosing phase, one control toxicity female was found dead and was replaced with another female of similar body weight from the pool of extra animals. No abnormal clinical observations preceded this death and no necropsy was performed.

b For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

c Urine white blood cell results for one toxicity female were missing due to an insufficient quantity of urine.

7B Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 13-week Rat

Report Title: A 13-Week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-Week Recovery Phase		**Test Article**: Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing**: 13 weeks	**Study No**. 8366846
Initial Age: 6-7 weeks	**Duration of Recovery**: 2 weeks	**Location in CTD**: 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration**: oral gavage	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle Control Article: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 350 mg/kg/day		

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
Number of Toxicokinetic Animals	3	6	6	6	3	6	6	6
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLLOQ	101	968	2250	BLLOQ	95.5	1140	3580
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	10.4	126	162	BLLOQ	17.2	194	249
Day 91								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLLOQ	208	2080	4190	BLLOQ	282	1940	4670
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	107	281	334	BLLOQ	161	353	348
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund (Toxicity Animals)[a]	0	0	0	1	0	0	0	3
Died or Sacrificed Moribund (Toxicokinetic Animals)[b]	0	0	0	1	0	0	0	0
Clinical Observations								

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
discharge oral, clear	0	0	1	2	0	0	4	4
Respiration audible	0	0	0	0	0	0	0	4
Body Weight (%)[c]								
Day 8	265 g	-1.5	-1.1	-7.5	196 g	0.5	-2.0	-3.1
Day 22	367 g	-2.2	-1.1	-9.5*	243 g	0.0	-1.6	-5.8*
Day 91	595 g	-3.5	-0.8	-19.0*	327 g	-1.8	-2.8	-11.6*
Food Consumption (%)[c]								
Days 1-8	27 g	0.0	0.0	-11.1*	18 g	5.6	0.0	-11.1
Days 15-22	28 g	-3.6	3.6	-7.1	20 g	-5.0	-5.0	-15.0*
Days 71-78	29 g	0.0	0.0	-13.8	18 g	11.1	11.1	-11.1*
Days 85-91	29 g	0.0	10.3	-6.9	19 g	0.0	5.3	-5.3
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 23								
White blood cell (E3/uL)	-	-	-	-	8.00	7.47	8.19	10.08*
Neutrophil (E3/uL)	1.61	1.61	1.62	1.30	-	-	-	-
Lymphocyte (E3/uL)	-	-	-	-	6.62	6.38	6.64	8.41*
Monocyte (E3/uL)	0.29	0.29	0.20*	0.20*	-	-	-	-
Eosinophil (E3/uL)	0.11	0.06	0.05*	0.03*	-	-	-	-
Day 92								
White blood cell (E3/uL)	-	-	-	-	5.81	6.63	6.99	10.58*
Neutrophil (E3/uL)	2.35	2.27	2.25	1.19*	-	-	-	-

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
Lymphocyte (E3/uL)	-	-	-	-	4.37	5.10	5.28	8.60*
Monocyte (E3/uL)	0.46	0.37	0.35	0.34	0.25	0.25	0.24	0.36*
Eosinophil (E3/uL)	0.14	0.13	0.10	0.05*	-	-	-	-
Basophil (E3/uL)	-	-	-	-	0.02	0.02	0.02	0.04*
Large unstained cell (E3/uL)	-	-	-	-	0.07	0.08	0.07	0.16*
Coagulation								
Day 23								
Fibrinogen (mg/dL)	194	189	194	179*	-	-	-	-
Day 92								
Fibrinogen (mg/dL)	177	173	173	157*	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Day 23								
Glucose (mg/dL)	74	75	60*	48*	84	90	71*	59*
Urea nitrogen (mg/dL)	-	-	-	-	13	13	12	11*
Albumin (g/dL)[d]	4.3	4.4	4.4	4.5*	-	-	-	-
Globulin (g/dL)	2.1	1.9	1.8*	1.7*	2.2	2.2	2.1	1.9*
Albumin:globulin ratio	2.1	2.3	2.4*	2.7*	2.2	2.3	2.3	2.7*
Alkaline phosphatase (U/L)	209	212	248	259*	116	103	131	131
Chloride (mmol/L)	101	101	100	98*	100	101	100	97*
Day 92								
Glucose (mg/dL)	92	87	74*	65*	87	87	83	71*
Urea nitrogen (mg/dL)	-	-	-	-	13	12	11*	11*
Total protein (g/dL)	7.1	7.2	6.9	6.6*	7.9	8.0	7.8	6.9*
Albumin (g/dL)[d]	4.4	4.5	4.5	4.6*	5.6	5.6	5.5	5.0*

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
Globulin (g/dL)	2.7	2.7	2.4*	1.9*	2.3	2.5	2.3	1.9*
Albumin:globulin ratio	1.6	1.7	1.9*	2.4*	2.4	2.3	2.4	2.7*
Alkaline phosphatase (U/L)	85	83	92	156*	36	35	41	57*
Calcium (mg/dL)	11.9	11.9	11.8	11.5*	12.4	12.3	12.1	11.9*
Phosphorous (mg/dL)	7.0	6.7	6.5*	7.8*	6.2	5.8	6.1	6.7*
Chloride (mmol/L)	102	103	101	100*	102	102	102	100*
Urinalysis								
Day 23								
Urine pH	6.8	6.8	6.6	6.3	6.8	6.6	6.3*	6.4*
Urine volume (mL)	-	-	-	-	15.6	20.2	18.2	27.1*
Day 92								
Urine specific gravity	-	-	-	-	1.021	1.014	1.015	1.008*
Urine pH	6.9	7.0	6.5	6.5	6.7	6.6	6.4	6.5
Urine volume (mL)	18.1	24.7	32.3*	34.4*	10.7	20.1	17.7	34.0*
Organ Weights								
Adrenal								
Absolute Organ Weight (%)[c]	0.0501 g	8.4	13.2	14.6	0.0561 g	8.6	27.5*	19.8
Organ to Body Weight (%)	0.0090	0.0101	0.0103	0.0130*	0.0187	0.0204	0.0249*	0.0257*
Organ to Brain Weight (%)	2.2427	2.3977	2.4830	2.5712	2.7781	2.9837	3.4606*	3.3571*
Kidney								
Absolute Organ Weight (%)[c]	-	-	-	-	1.6890 g	-0.5	10.0*	12.9*
Organ to Body Weight (%)	-	-	-	-	0.5574	0.5644	0.6432*	0.7276*
Organ to Brain Weight (%)	-	-	-	-	83.6088	82.4361	89.9762	95.4664*
Liver								

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
Absolute Organ Weight (%)[c]	13.6705 g	-8.7	13.8	19.6*	7.3148 g	-1.3	10.1	33.2*
Organ to Body Weight (%)	2.4407	2.3180	2.8037*	3.6770*	2.3967	2.4182	2.7769*	3.7193*
Organ to Brain Weight (%)	611.4465	551.4062	681.4206	733.4870*	361.4784	354.3388	389.6040	488.4821*
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of Animals Examined	10	10	10	9	10	10	10	7
Adrenal, Cortex								
Hypertrophy								
Minimal	2	0	0	4	1	0	0	3
Liver								
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular								
Minimal	0	0	1	4	0	0	2	5
Kidney								
Vacuolation, tubule cell								
Minimal	1	0	0	2	2	0	2	4
Recovery Phase								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	0	0	5	5	0	0	5
Body Weight (%)[c]								
Day 1	556 g	NA	NA	-20.5*	295 g	NA	NA	-10.2*
Day 14	606 g	NA	NA	-16.0*	321 g	NA	NA	-3.7
Food Consumption (%)[c]								
Days 1-8	-	NA	NA	-	20 g	NA	NA	20.0
Days 8-14	-	NA	NA	-	20 g	NA	NA	10.0

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**350 (Mid)**	**1000 (High)**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**15**	**10**	**10**	**15**	**15**	**10**	**10**	**15**
Organ Weights								
Adrenal								
Absolute Organ Weight (%)[c]	0.0530	NA	NA	30.8*	-	NA	NA	-
Organ to Body Weight (%)	0.0093	NA	NA	0.0146*	-	NA	NA	-
Organ to Brain Weight (%)	2.2842	NA	NA	2.9899*	-	NA	NA	-

Abbreviations: - = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BLLOQ = Below the lower limit of quantitation (< 0.200 µg/mL); C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable

***** = Statistically significant based on actual data (not on percent difference)

Mean Severity Grades: Min = Minimal

[a] One toxicity Group 4 female was found dead on Day 20 with no previous clinical observations; one toxicity Group 4 female euthanized on Day 38 due to clinical observations of sternal recumbency, hypoactivity, squinting eyes, and limited use of the hind legs; and one toxicity Group 4 male euthanized on Day 78 due to marked body weight loss (approximately 23% in one week). These deaths were considered acoramidis-related. One toxicity Group 4 female died on Day 23 of the dosing phase following the Week 4 clinical pathology blood collection. This was likely caused by trauma related to the blood collection procedure and was considered not acoramidis related.

[b] One toxicokinetic Group 4 male was euthanized on Day 91 of the dosing phase due to clinical observations of lateral recumbency, irregular respiration, squinting eyes, and cold to the touch. This death was considered acoramidis-related.

[c] For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from control is shown.

[d] Minimally but statistically significantly higher albumin concentration on Days 23 and 92 in males administered 1000 mg/kg/day was considered of uncertain relationship to acoramidis due to the small magnitude of change and opposite direction of change observed in females.

7C Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 26-week Rat

Report Title: A 26-week Study of AG10 by Oral Gavage in Rats with a 28-day Recovery Period		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Study No.:** 20[redacted]1689
Age at First Dose: 8 weeks	**Duration of Postdose:** 28 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose sodium salt (medium viscosity) in reverse osmosis deionized water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 600 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**300**		**600**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Femal**	**Male**	**Female**
Number of Animals								
Toxicity	20	20	15	15	15	15	20	20
Toxicokinetics	3	3	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics:								
AG10								
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	13.6	20.1	123	181	183	174
Day 182	BLLOQ	BLLOQ	56.5	126	182	361	267	406
AUC_{last} (µg*hr/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	95.6	91.8	731	849	1280	1620
Day 182	BLLOQ	BLLOQ	141	171	1560	1930	2780	3490
AG10 Acylglucuronide								
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	11.3	4.88	89.1	41.7	120	47.5
Day 182	BLLOQ	BLLOQ	16.7	17.7	79.4	58.0	99.9	135
AUC_{last} (µg*hr/mL)								

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary
ALXN2060 ATTR-CM

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**300**		**600**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Femal**	**Male**	**Female**
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	32.4	16.0	451	214	765	346
Day 182	BLLOQ	BLLOQ	49.5	25.8	605	315	1080	899
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	1[a]	0	0	1[a]	0	2[a]	1[a]
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[b, c]	767.35 g	-	-9.14	-	-12.84	-	-20.47***	-
Food Consumption (%)[b, c]	34.38 g	-	-9.93**	-	-13.12***	-	-15.36***	-
Clinical Observations[d]								
Salivation	-	-	-	1/1	6/12	3/3	5/8	16/36
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry[b, c]								
Alkaline phosphatase (U/L)	67.20	-	-	-	-	-	89.10***	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[b, c, e]								
Liver (g)	-	9.0623	-	-	-	-	-	21.7956*
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	0	0	0	0	5	5
Body Weight (%)[c, f]	779.40 g	-	NA	NA	NA	NA	-20.20*	-
Food Consumption (g)[c]	[g]	-	NA	NA	NA	NA	[g]	-

Abbreviations: BLLOQ = Below the lower limit of quantitation (< 0.200 µg/mL); - = No noteworthy findings; NA = Not applicable; AUC_{last} = AUC from 0 to the time of the last measurable concentration; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices
Dunn/Dunnett/T-test/Wilcoxon: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

[a] Not test article related.

[b] At end of treatment. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Considered non-adverse.

[d] Number of animals affected/Number of times recorded.

[e] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent differences from controls for the absolute organ weights.

[f] At end of recovery. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[g] Mean food consumption at 600 mg/kg/day remained lower than controls during Days 182-190 (-13.40%*), Days 190-197 (-8.90%**), and Days 197-204 (-7.96%) of the recovery period.

7D Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 4-week Dog

Report Title: A 4-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with 2-Week Recovery Phase		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Dog/Purebred beagle	**Duration of Dosing:** 28 days	**Study No.** 8355825
Initial Age: 5-6 months old	**Duration of Postdose:** 2 weeks	**Location in CTD**: 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle Control Article: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 200 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
Dosing Phase										
Toxicokinetics:										
Day 1										
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLQ	BLQ	156	152	574	775	1700	935	1700	1700
C_{max} (µg/mL)	BLQ	BLQ	33.9	32.6	90.9	127	213	111	232	176
Day 28										
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	BLQ	BLQ	160	182	796	607	1140	1740	1820	2810
C_{max} (µg/mL)	BLQ	BLQ	42.6	42.0	130	114	212	317	336	411
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Clinical Observations										
struggled during dosing	1	1	0	3	2	0	2	0	3	0
vocalization during dosing	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50 (Low)		200 (Mid)		400 (Mid High)		600 (High)	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
vomitus, group observation, brown, containing food	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
vomitus, group observation, containing food	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
vomitus, group observation, foamy	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
vomitus, individual observation	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
vomitus, individual observation, brown	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
vomitus, individual observation, brown, containing food	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
vomitus, individual observation, clear	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
vomitus, individual observation, clear, foamy	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
vomitus, individual observation, cloudy	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
vomitus, individual observation, containing food	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
vomitus, individual observation, foamy	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
vomitus, individual observation, foamy, white	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
vomitus, individual observation, foamy, yellow	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
vomitus, individual observation, foreign material, white	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
vomitus, individual observation, mucoid, yellow	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
vomitus, individual observation, white	0	0	0	0	1	1	1	2	4	2
feces, liquid, group observation	0	0	0	0	2	0	0	2	5	0
feces, nonformed, group observation	3	0	0	0	2	0	0	0	5	5
feces, nonformed, individual observation	0	0	0	0	0	0	2	0	1	2
Body Weight Change (kg)										
Days 8-15	0.2	-	0.3	-	0.1	-	0.2	-	-0.3	-
Days 1-28[b]	0.5	0.3	0.7	0.7	0.7	0.6	0.4	0.4	-0.1	0.0
Food Consumption (%)[c]										
Days 8-15	1668 g	1576 g	10.9	-6.7	8.6	6.3	4.9	-10.3	-34.6	-26.7
Days 22-28	1229 g	1088 g	7.0	21.0	9.7	21.7	22.9	2.6	-18.2	-27.6
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations										
Day 23										
Heart rate (beats/minute)	118	107	105	113	137	119	196*	239*	168*	179
QT interval (msec)	194	195	189	196	174	188	150*	137*	162*	165
QTc interval (msec)	243	235	228	241	228	235	222	216	227	230
Waveform Evaluation[d]										
W	5	-	3	-	3	-	3	-	3	-
VPC	0	-	0	-	0	-	0	-	1	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
Coagulation										
Day 29										
Activated partial thromboplastin (sec)	12.3	11.9	12.5	12.2	12.8	12.5	13.0	13.4*	15.3*	15.7*
Fibrinogen (mg/dL)	221	-	229	-	200	-	220	-	306	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis										
Day 29										
Urine volume (mL)	91.6	139.9	155.2	271.4	146.2	127.0	272.8	244.0	467.5*	306.7*
Specific gravity	> 1.036	1.040	1.033	1.023	1.046	> 1.037	1.029	1.029	1.016	1.020
Urine pH	8.1	7.9	8.0	8.2	7.7	8.2	7.3	7.3	7.0	7.0*
Organ Weights										
Liver										
Absolute Organ Weight (%)[c]	224.063 g	189.950 g	6.2	11.0	18.4	19.9	14.5	25.3	38.9	21.9
Organ to Body Weight (%)	2.9742	2.9097	2.8029	2.8438	3.2317	2.9905	3.2758	3.1547	3.9098	3.5186
Organ to Brain Weight (%)	294.9732	262.0444	333.6623	301.8043	341.9293	306.4993	343.0545	338.4610	424.0493	324.6295
Heart										
Absolute Organ Weight (%)[c]	61.076 g	-	12.7	-	12.0	-	26.8	-	15.7	-
Organ to Body Weight (%)	0.8072	-	0.8065	-	0.8379	-	0.9882*	-	0.8849	-
Organ to Brain Weight (%)	80.1751	-	96.4387	-	88.2593	-	103.7199	-	96.0319	-
Thymus										
Absolute Organ Weight (%)[c]	8.698 g	5.719 g	29.2	8.7	7.5	79.4	-34.4	68.3	-20.5	-34.5
Organ to Body Weight (%)	0.1121	0.0876	0.1311	0.0828	0.1180	0.1304	0.0730	0.1283	0.0795	0.0564
Organ to Brain Weight (%)	11.2579	7.8942	15.6925	8.9564	11.8428	13.8479	7.5620	13.6875	8.7720	5.1145

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary
ALXN2060 ATTR-CM

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
Number of Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
Heart										
Degeneration/necrosis, myocardium										
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Infiltrate, mononuclear cell										
Minimal	0	2	1	1	0	1	1	1	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Hemorrhage										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Fibrosis										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus										
Depletion, lymphocytes										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
Recovery Phase										
Number of Toxicity Animals in Recovery	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
Urinalysis										
Day 15										
Urine volume (mL)	-	74.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	335.0
Urine pH	7.3	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.0	-
Organ weights										
Liver										
Absolute Organ Weight (%)[c]	273.284 g	196.526 g	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-12.8	23.3
Organ to Body Weight (%)	3.0803	2.5369	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.2974	3.2302
Organ to Brain Weight (%)	367.7790	289.6589	NA	NA	NA	NA	NA	NA	315.7696	329.0254
Thymus										
Absolute Organ Weight (%)[c]	7.669 g	10.409 g	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-37.0	-37.1
Organ to Body Weight (%)	0.0842	0.1344	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.0661	0.0873
Organ to Brain Weight (%)	10.2179	15.3480	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.4250	8.8520
Histopathology										
Number of Animals Examined	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
Heart										
Degeneration/necrosis, myocardium										
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Slight	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Infiltrate, mononuclear cell										

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

ALXN2060 ATTR-CM

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50 (Low)**		**200 (Mid)**		**400 (Mid High)**		**600 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	**5**	**5**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**5**	**5**
Minimal	1	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Fibrosis										
Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0

Abbreviations: - = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BLQ = Below the lower limit of quantitation (< 0.200 µg/mL); C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable; W = Within normal limits; VPC = Ventricular premature complexes

***** = Statistically significant ($p \leq 0.05$) based on actual data (not on percent difference).

[a] One male administered 600 mg/kg/day was euthanized due to poor condition on Day 15 of the dosing phase. The poor clinical condition resulting in euthanasia was considered due to test article-related myocardial degeneration.

[b] One female administered 600 mg/kg/day lost -0.6 kg from Day 1 to Day 28.

[c] For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[d] Ventricular premature complexes were observed in one male administered 600 mg/kg/day on Day 23 of the dosing phase.

7E Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 13-week Dog

Report Title: A 13-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs Administered AG10 Once Daily by Oral Gavage with a 2-Week Recovery Phase		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Dog/Purebred beagle	**Duration of Dosing**: 13 weeks	**Study No**. 8366847
Initial Age: 6-7 months	**Duration of Recovery**: 2 weeks	**Location in CTD**: 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration**: oral gavage	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle Control Article: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg/day		

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**
Number of Animals at Study Start	**6**	**4**	**4**	**6**	**6**	**4**	**4**	**6**
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NA	120	344	916	NA	197	413	1040
C_{max} (µg/mL)	BLQ	23.7	55.6	128	BLQ	44.5	56.9	170
Day 91								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NA	133	391	684	NA	241	361	1510
C_{max} (µg/mL)	BLQ	31.0	97.7	119	BLQ	49.1	72.5	261
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[a]	0	0	1	1	0	1	0	0
Clinical Observations[b]								
Behavior								
emesis	0	0	1	5	0	2	2	6
struggled during dosing	2	2	4	2	2	0	2	3
Discharge								

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**
Number of Animals at Study Start	**6**	**4**	**4**	**6**	**6**	**4**	**4**	**6**
excessive salivation	0	0	0	3	0	1	2	1
vomitus, group observation, brown, containing food	0	0	0	0	0	0	0	2
vomitus, group observation, foamy, white	0	0	0	2	2	0	2	2
vomitus, group observation, white	0	0	0	4	0	0	0	6
vomitus, group observation, yellow	0	0	0	4	0	0	0	0
vomitus, individual observation, containing food, white	0	0	0	1	0	0	0	0
vomitus, individual observation, foamy	0	0	0	0	0	0	0	1
vomitus, individual observation, foamy, red	0	0	1	1	0	0	0	0
vomitus, individual observation, foamy, white	0	0	0	5	0	1	2	5
vomitus, individual observation, white	0	0	0	3	0	1	1	2
Excretion								
feces, liquid, group observation	0	0	0	0	0	2	0	4
feces, liquid, individual observation	0	0	0	0	0	0	0	2
feces, nonformed, group observation	0	0	0	0	0	0	0	6
feces, nonformed, individual observation	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight (%)[c]								
Day 1	7.5 kg	1.3	-2.7	1.3	7.1 kg	0.0	1.4	1.4
Day 91	9.2 kg	-4.3	-6.5	-3.3	8.0 kg	1.3	-1.3	-2.5
Body Weight Change (kg)								

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary
ALXN2060 ATTR-CM

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**	**0 (Control)**	**50 (Low)**	**125 (Mid)**	**300 (High)**
Number of Animals at Study Start	**6**	**4**	**4**	**6**	**6**	**4**	**4**	**6**
Day 1 through 91	1.7	1.2	1.2	1.3	0.9	1.2	0.7	0.6
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations								
Day 85								
PR interval (msec)	-	-	-	-	103	104	84*	78*
QT interval (msec)	195	197	180	169*	-	-	-	-
Heart rate (beats/minute)	100	108	133	156*	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	
Recovery Phase								
Number of Animals in Recovery	2	0	0	2	2	0	0	2
Body Weight Change (kg)								
Day 1 through 14	0.1	NA	NA	0.3	0.1	NA	NA	0.5

Abbreviations: - = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from hour 0 to hour 24; BLQ = Below the limit of quantitation (< 0.200 µg/mL); C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable

***** = Statistically significant ($p \leq 0.05$) based on actual data (not on percent difference).

[a] Three unscheduled euthanasias occurred; however, these were considered not acoramidis related.

[b] Based on their relatively mild severity and transient nature, none of the clinical observations were considered adverse.

[c] For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from control is shown.

7F Repeat-Dose Toxicity (Pivotal): 39-week Dog

Report Title: A 39-week Study of AG10 by Oral Gavage in Dogs with a 28-day Recovery Period		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 39 weeks	**Study No:** 20[redacted]1692
Age at First Dose: 6 months	**Duration of Postdose:** 28 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose sodium salt (medium viscosity) in reverse osmosis deionized water		
Special Features: Cardiac troponin evaluation was performed throughout the study to measure the concentration of Troponin I. The lowest level of quantitation for Troponin I was 0.2 ng/mL.		
No Observed Adverse Effect Level: 250 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**112**		**250**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Mala**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals	**6**	**6**	**4**	**4**	**4**	**4**	**6**	**6**
Toxicokinetics:[a]								
AG10								
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	22.8	26.4	45.8	60.9	147	146
Day 273	BLLOQ	BLLOQ	48.2	61.0	105	118	233	264
AUC_{last} (µg*hr/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	90.1	91.3	238	282	818	830
Day 273	BLLOQ	BLLOQ	150	159	353	472	1040	1310
AG10 Acylglucuronide								
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	6.90	6.55	18.2	24.6	117	95.5
Day 273	BLLOQ	BLLOQ	18.2	23.1	53.3	80.6	167	203
AUC_{last} (µg*hr/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	15.5	14.5	66.1	92.3	555	439
Day 273	BLLOQ	BLLOQ	41.5	43.6	128	260	719	916

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**112**		**250**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Mala**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals	**6**	**6**	**4**	**4**	**4**	**4**	**6**	**6**
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	1[b]	0	1[b]	1[b]	1[b]
Body Weight (kg)[c, d]	10.05	-	-	-	-	-	-2.49	-
Food Consumption (g)[c, d]	272.05	-	0.38	-	-2.07	-	-0.20	-
Clinical Observations[e]								
Salivation	-	-	-	1/2	-	-	4/22	3/14
Vomitus	-	-	-	3/5	-	1/2	5/13	4/17
Abnormal material	6/61	6/290	4/82	4/133	4/134	4/238	6/545	6/609
Abnormal fecal	6/255	6/332	4/186	4/187	4/426	4/223	6/753	6/715
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography[f]								
Heart rate (bpm)	94	98	-	-	-	-	141	129*
PR interval (msec)	93	93	-	-	-	-	77*	81*
Hematology/Coagulation[c, d]								
Red blood cells (10^6/μL)	6.617	-	-	-	-10.793*	-	-12.010**	-
Hemoglobin (g/dL)	15.25	-	-	-	-	-	-11.61*	-
Hematocrit (%)	44.57	-	-	-	-	-	-10.83*	-
Clinical Chemistry[c, d]								
Total bilirubin (mg/dL)	0.060	0.077	-	-	-	-	-46.667*	-34.783
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac Troponin	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**112**		**250**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Mala**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals	**6**	**6**	**4**	**4**	**4**	**4**	**6**	**6**
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Body Weight (kg)[d, g]	9.85	-	NA	NA	NA	NA	-8.12	-
Hematology/Coagulation[d, g]								
Red blood cells (10^6/µL)	7.215	-	NA	NA	NA	NA	-13.999	-
Hemoglobin (g/dL)	16.65	-	NA	NA	NA	NA	-13.81	-
Hematocrit (%)	48.20	-	NA	NA	NA	NA	-13.80	-
Clinical Chemistry[d, g]								
Total bilirubin (mg/dL)	0.055	0.080	NA	NA	NA	NA	-45.455	-100.000

Abbreviations: BLLOQ = Below the lower limit of quantification (< 0.200 µg/mL for acoramidis and < 0.100 µg/mL for acoramidis acylglucuronide);
- = No noteworthy findings; NA = Not applicable； AUC_{last} = AUC from 0 to the time of the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practices
Dunnett * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$.

[a] A 0-hour sample was also collected on Day 136 for Groups 1 through 4. All Group 1 samples were BLLOQ. Mean predose concentrations ranged from 1.74 µg/mL (after 50 mg/kg/day AG10) to 3.69 µg/mL (after 250 mg/kg/day acoramidis) for acoramidis and from 0.0763 µg/mL (after 50 mg/kg/day acoramidis) to 0.762 µg/mL (after 250 mg/kg/day acoramidis) for acoramidis acylglucuronide. These concentrations were lower than those on Day 273 (for acoramidis in particular), suggesting additional accumulation between Days 136 and 273.

[b] Not test article related. Findings were consistent with an acute injury resulting from a gavage error.

[c] At end of treatment. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Considered non-adverse.

[e] Number of animals affected/Number of times recorded.

[f] At end of treatment. Group means are shown for controls and treated groups.

[g] At end of recovery. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control are shown. All groups excluded from statistical analysis (N < 3 in Control).

2.6.7.8. Genotoxicity: In Vitro

8A Genotoxicity In Vitro: Bacterial Mutation Test

Report Title: AG10: Bacterial Reverse Mutation Assay		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	**Study No.** 8358481
Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102	**No. of Replicate Cultures**: 3	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S-9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** NA	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: for Test Article: DMSO	**For Positive Controls:** DMSO	
Treatment: Plate incorporation method (48-hour incubation)		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Evidence of toxicity in the form of thinning of background bacterial lawn, with or without a concurrent marked reduction in revertant numbers, was observed at 5000 µg/plate in strains TA98, TA100 and TA102 in the absence and presence of S-9 and in strain TA1537 in the presence of S-9 only.		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg per plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without	DMSO	0	26.7 ± 3.8	111.7 ± 8.1	18.7 ± 2.5	14.7 ± 4.0	291.0 ± 50.3
	AG10	5	29.7 ± 9.1	112.0 ± 13.7	19.7 ± 4.5	10.3 ± 1.5	327.7 ± 10.3
		16	25.7 ± 4.0	100.0 ± 8.7	29.0 ± 3.6	15.7 ± 4.0	422.7 ± 57.7
		50	34.3 ± 5.9	101.3 ± 5.5	24.7 ± 3.1	12.3 ± 3.5	331.7 ± 11.0
		160	30.7 ± 4.5	120.3 ± 21.6	29.7 ± 10.0	15.7 ± 3.5	361.0 ± 6.1
		500	37.0 ± 14.9	102.3 ± 20.2	35.7 ± 3.2	16.7 ± 3.1	370.3 ± 54.2
		1600	34.7 ± 4.2	113.0 ± 20.1	22.3 ± 5.5	12.3 ± 5.8	287.0 ± 37.2
		5000	21.3 ± 2.5	98.7 ± 9.2	18.0 ± 7.5	10.3 ± 1.2	213.3 ± 50.0
	2NF	5	1437.7 ± 36.7	NA	NA	NA	NA
	NaN_3	2	NA	955.7 ± 46.5	745,7 ± 46.5	NA	NA
	AAC	50	NA	NA	NA	478.3 ± 53.5	NA
	MMC	2	NA	NA	NA	NA	679.0 ± 213.3
With	DMSO	0	30.7 ± 9.0	106.3 ± 22,7	15.7 ± 8.1	13.7 ± 4.2	299.0 ± 18.2
	AG10	5	31.3 ± 5.0	112.3 ± 10.7	11.0 ± 1.0	14.3 ± 3.8	344.3 ± 10.0
		16	33.3 ± 11.4	104.0 ± 1.0	13.7 ± 3.2	16.7 ± 4.9	331.0 ± 16.5
		50	35.3 ± 3.1	98.7 ± 3.2	9.0 ± 5.0	15.0 ± 4.6	321.0 ± 36.4
		160	31.7 ± 3.5	113.7 ± 16.4	4.7 ± 2.5	23.3 ± 4.0	237.7 ± 40.1
		500	29.0 ± 7.5	113.0 ± 25.5	11.0 ± 2.6	21.7 ± 9.7	238.0 ± 24.3
		1600	27.0 ± 10.5	110.0 ± 9.5	12.3 ± 4.6	15.7 ± 4.0	229.0 ± 22.7
		5000	31.0 ± 6.0	89.7 ± 23.0	11.3 ± 2.5	14.7 ± 4.6	179.7 ± 5.1
	B[a]P	10	342.7 ± 47.2	NA	NA	NA	NA
	AAN	5	NA	1844.0 ± 341.3	185.0 ± 10.6	393.7 ± 14.6	NA
	AAN	20	NA	NA	NA	NA	2258.0 ± 253.2

Abbreviations: 2NF = 2-nitrofluorene; NaN_3 = Sodium azide; AAC = 9-aminoacridine; DMSO = dimethylsulfoxide; MMC = Mitomycin C; B[a]P = Benzo[a]pyrene; SD = Standard deviation

2.6.7.9. Genotoxicity: In Vivo

9A Genotoxicity In Vivo: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay

Report Title: AG-10: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Test for Induction of: Cytogenetic damage which results in the formation of micronuclei containing either lagging chromosome fragments or whole chromosomes. Also, the alkaline Comet assay detects DNA strand breaks, seen as an increase in DNA migration.	**Treatment Schedule:** acoramidis, vehicle and positive control were given as three administrations. Vehicle and test article animals were dosed at 0, 24 and 47 hours. The positive control animals were administrated at 0, 24 and 45 hours. All animals were sampled at 48 hours.	**Study No.** 8358482
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Sampling Time:** 48 hours	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2
Age: 6-7 weeks old	**Method of Administration:** Oral gavage, 10 mL/kg dose volume.	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Evaluated/Animal: At least 4000 PCE/animal were examined for the presence of MN.		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Special Features: Comet slides were examined for tail intensity (%DNA in tail) obtained from 150 cells/animal. This was evenly split over three slides. The number of 'hedgehogs' (a morphology indicative of highly damaged cells often associated with severe cytotoxicity, necrosis or apoptosis) observed during Comet scoring was recorded for each slide. To avoid the risk of false positive results, 'hedgehogs' were not used for comet analysis.		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: Acoramidis did not induce an increase in micronucleated polychromatic erythrocytes of the bone marrow, nor did it induce biologically relevant increases in DNA strand breaks in the liver or stomach when tested in male rats dosed orally up to 2000 mg/kg/day.		
Evidence of Exposure: The mean plasma concentration of AG-10 in male animals dosed 2000 mg/kg/dose sampled at T_{max} (1 hour) on Day 3 was 343 ng/mL. These results confirm that animals dosed at 2000 mg/kg/day were systemically exposed to AG-10.		

Test Article	Dose Level or Concentration (mg/kg/day)	No. of Animals	Proportion of PCE (Group Mean %)	% MN PCE (Group Mean)	Liver Tail Intensity (Mean ± SEM)	Stomach Tail Intensity (Mean ± SEM)
Vehicle (0.5%MC)	0	6 males	50.43	0.11	0.05 ± 0.02	1.89 ± 0.83
Acoramidis	600	6 males	57.40	0.13	0.08 ± 0.02	4.17 ± 3.73
Acoramidis	1000	6 males	45.53	0.08	0.06 ± 0.02	2.00 ± 1.14
Acoramidis	2000	6 males	45.17	0.08	0.08 ± 0.02	2.05 ± 1.73
Ethyl methanesulfonate	150	3 males	52.40	0.82*	24.21 ± 0.72**	35.88 ± 4.47**

Abbreviations: * $p < 0.05$, **$p < 0.01$; PCE = polychromatic erythrocytes; SEM = standard error of the mean; GLP = Good Laboratory Practice; MN = micronuclei; T_{max} = time to maximun concentration; MC = methylcellulose

2.6.7.10. Carcinogenicity

10A Pre-Carcinogenicity (Nonpivotal): 4-week Mouse

Test Article: Acoramidis (AG10)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse/ RasH2 (001178-W [wild type], CByB6F1-Tg[HRAS]2 Jic)	Oral Gavage (0.5% (w/v) MC, 400 cps, prepared in RO water)	up to 28 days	0, 500, 1000, 1500	10M, 10F	MTD 500	1000 mg/kg/day: Two females and one male were found dead on Day 23 and 25, respectively of the dosing phase. Increased liver/gall bladder weights (males); increased epididymis and prostate weights and decreased thymus weights were noted in males. Minimal to marked multifocal degeneration/regeneration of tubules was noted in the kidney of males characterized by a multifocal linear pattern of medullary tubules with cellular debris, nuclear pyknosis/fragmentation, and sloughed epithelial cells with protein casts and infiltrates of low numbers of neutrophils (degeneration), accompanied by basophilia, attenuation, nuclear crowding, and rare mitotic figures in adjacent tubules (regeneration). 1500 mg/kg/day: All animals euthanized early on Day 1 of dosing due to decreased activity, ataxia, low carriage, splayed gait, hunched posture, piloerection, squinting eyes, hypothermia, sternal or dorsal recumbence, and labored respiration. 500 mg/kg/day was considered the maximum tolerated dose.	8409781

Abbreviations: M = male; F = female; NOAEL = No observed adverse effect level; MTD = Maximum tolerated dose; RO = reverse osmosis

10B Carcinogenicity (Pivotal): 26-week Mouse

Carcinogenicity Report Title: 26-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with AG10 in 001178-T (Hemizygous) mice		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Mouse/RasH2 (001178-T [hemizygous], CbyB6F1-Tg[HRAS]2Jic)	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Study No.** 8410991
Initial Age: 8-9 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage[a]	**Location in CTD:** 4.2.3.4.1
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) 20[redacted] (females)	**Vehicle Control Article:** 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis water **Positive Control Article:** N-methyl-N-nitrosourea[b]	**GLP Compliance:** Yes
No Observed Adverse Effect Level: Not Stated[c]		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30 (Low)**		**100 (Mid)**		**300 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals at Study Start	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**	**25**
Dosing Phase								
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[d]	3	2	1	2	3	2	2	0
Clinical Signs/Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Mass Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: - = No noteworthy findings; GLP = Good Laboratory Practices

[a] Groups 1 through 4 were administered AG10 once daily by oral gavage for 26 weeks at a dose volume of 10 mL/kg.

[b] Positive Control Article (N-methyl-N-nitrosourea) was administered to Group 5 once on Day 1 of the dosing phase by intraperitoneal injection at a dose volume of 10 mL/kg. These animals were included as positive controls to ensure animals supplied respond to carcinogenic insult.

[c] No carcinogenic potential was observed for AG10.

[d] Considered not AG10-related.

10C Carcinogenicity (Pivotal): 104-week Rat

Carcinogenicity Report Title: AG10: 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing**: 104 weeks	**Study No**. 8409782
Initial Age: 6-8 weeks	**Duration of Recovery**: NA	**Location in CTD**: 4.2.3.4.1
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted] (females)	**Method of Administration**: Oral gavage, once daily, 10 mL/kg	**GLP Compliance**: Yes
Special Features: None	**Vehicle Control Article**: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps, prepared in reverse osmosis water	
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/day (males) and 350 mg/kg/day (females)		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5 (male)/40 (female) (Low)**		**15 (male)/120 (female) (Mid)**		**50 (male)/350 (female) (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Carcinogenicity Animals at Study Start	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Number of Toxicokinetic Animals	3	3	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase								
Toxicokinetics - AG10:								
Day 1								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NC	NC	55.4	110	75.4	358	109	1210
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	BLLOQ	4.18	23.4	7.40	125	37.1	316
Day 176								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NC	NC	67.3	89.2	80.1	302	126	1250
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	BLLOQ	3.94	31.1	6.71	114	49.1	218
Toxicokinetics - AG10 Acyl Glucuronide:								
Day 1								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NC	NC	2.00	21.4	9.27	96.4	28.2	386
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	BLLOQ	1.31	7.51	4.85	32.6	25.0	70.2

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5 (male)/40 (female) (Low)**		**15 (male)/120 (female) (Mid)**		**50 (male)/350 (female) (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Carcinogenicity Animals at Study Start	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Day 176								
AUC_{0-24} (µg*hr/mL)	NC	NC	0.706	30.5	6.97	121	28.6	828
C_{max} (µg/mL)	BLLOQ	BLLOQ	0.767	12.0	3.76	34.1	19.2	105
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[a]	31	38	34	37	40	40	38	41
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Neoplastic Findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Non-Neoplastic Findings:								
Number of Animals Examined	60	60	60	60	60	60	60	60
Adrenal Cortex								
Hyperplasia, zona fasciculata								
Minimal	3	0	8	2	4	5	6	3
Slight	5	4	6	7	2	1	10	1
Moderate	0	0	2	0	1	0	2	0
Pancreas								
Hyperplasia, islet cell								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Slight	1	0	1	0	2	1	2	0
Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0

Abbreviations: - = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BLLOQ = Below lower limit of quantitation (< 0.200 µL/mL); C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable; NC = Not calculated

[a] Throughout the study animals in all groups were found dead or sacrificed in moribund condition. No evidence of AG10-related mortality or effects on survival were noted.

2.6.7.11. Reproductive and Developmental Toxicity (Nonpivotal Studies)

Test Article: Acoramidis (AG10)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rats/Crl:CD (Sprague Dawley)	Oral Gavage/ 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps in reverse osmosis water	Once daily GD 6 through 17	0, 50, 350, 1000	6	There were no noteworthy findings for the 50, and 350 mg/kg/day groups. 1000 mg/kg/day group: Acoramidis-related reductions in mean body weight, body weight gain, and corresponding reductions in food consumption were noted during the dosing phase GD 6 through 18. Adjusted mean fetal weight (combined sexes) were also reduced compared to control.	8405806
Rabbit/Hra: (NZW)SPF	Oral Gavage/ 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps in reverse osmosis water	Once daily GD 7 through 19	0, 50, 350, 1000	6	There were no noteworthy findings for the 50 mg/kg/day group. 350 mg/kg/day group: 5 out of 6 animals were euthanized in a moribund condition on GD 13 or 14 Acoramidis-related marked reduction in mean body weight and food consumptions were also noted. 1000 mg/kg/day group: 4 out of 6 animals were found dead on GD 9 and the remaining 2 were euthanized in a moribund condition on the same day. Clinical observations included irregular or audible respiration, dilated pupils, hypoactivity, decreased reactivity to stimulus, lateral recumbency, pale body, and/or cold to touch. Marked reductions in mean body weight and food consumption were also noted compared to controls.	8405805

Abbreviations: GD = Gestation Day

2.6.7.12. Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Pivotal)

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of AG10 Administered by Oral (Gavage) in Rats			**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing:** Males: 28 days prior to mating, during cohabitation and continuing through the day before euthanasia on DS 50-53 Females: 15 days prior to mating, during cohabitation and continuing through DG 7		**Study No.** 20[redacted]3873
Initial Age: Males: Approximately 69 Days Females: Approximately 62 Days			**Design similar to ICH 4.1.1:** Yes
			Location in CTD: 4.2.3.5.1
			GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Mating:** DG 0	**Method of Administration:** Oral Gavage	
Special Features: None	**Day of C-Section:** DG 13		
Control/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose sodium salt (medium viscosity) in reverse osmosis deionized water			
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Males - General Toxicity:** 50 mg/kg/day; - **Reproductive:** 1000 mg/kg/day **F_0 Females - General Toxicity:** 350 mg/kg/day; - **Reproductive:** 1000 mg/kg/day **F_1 Litters:** 1000 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Males:	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	No. Died or Sacrificed Moribund[a]	1	0	0	3
	Clinical Observations[b]				
	Dehydration – Mild	1[a]	0	1	9
	Rales	1[a]	0	3	7
	Excess Salivation – Slight	0	0	1	3
	Ungroomed Coat	0	0	0	3
	Light Brown Feces	0	0	0	3
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weights, Absolute[c,d]				
	Seminal Vesicles with Fluid	2.3 g	+0.3	+0.9	-11.7*
	Prostate	1.4 g	+0.3	-1.1	-21.4**
	Organ Weights, % Terminal Body Weight[c,d]				

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Males:	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	Epididymis, Left	0.131 %	+3.1	+6.1	+10.7**
	Epididymis, Right	0.132 %	+2.3	+6.1	+10.6**
	Testis, Left	0.328 %	+2.1	+5.8	+11.9**
	Testis, Right	0.328 %	+3.7	+6.7	+12.5**
	Body Weight (%)[c]				
	DS 25	496.0 g	-1.2	-5.9**	-10.5**
	DS 50	562.5 g	-1.7	-7.0**	-14.6**
	Body Weight Gain (%)[c]				
	DS 1-25	123.7 g	-6.5	-24.3**	-42.3**
	DS 1-50	190.1 g	-6.0	-21.1**	-42.6**
	Food Consumption (%)[c]				
	DS 1-28	59.8 g/day	-0.7	-5.7	-14.0**
	Mean No. Days Prior to Mating	2.5	2.2	2.4	2.4
	No. of Males that Mated	20	21	22	18
	No. of Fertile Males	19	21	20	17
	Sperm Evaluations[e]	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Females:	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations[b]				
	Premating				
	Rales	0	1	2	3
	Gestation				
	Rales	0	0	3	2
	Excess Salivation- Slight	0	0	0	2
	Excess Salivation- Moderate	0	0	0	1
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Ovary Weights	-	-	-	-
	Body Weight, Premating (%)[c]				
	DS 4	258.9 g	0.0	-0.7	-7.5**
	DS 15	273.9 g	-0.5	-0.3	+1.1
	Body Weight Gain, Premating (%)[c]				
	DS 1-4	0.8 g	+200.0	+200.0	-2050.0**
	DS 1-15	15.8 g	+0.6	+16.5	+39.2
	Food Consumption, Premating (%)[c]				
	DS 1-8	35.9 g/day	+1.4	-6.1	-36.5**
	DS 8-15	35.6 g/day	-0.3	0.0	+19.9**
	DS 1-15	35.9 g/day	+0.3	-3.6	-8.6*
	Body Weight, Gestation (%)[c]				
	DG 13	329.2 g	+1.6	+0.1	+2.6
	Body Weight Gain, Gestation (%)[c]				
	DG 0-13	51.2 g	+10.9	+5.3	+14.5
	Food Consumption, Gestation (%)[c]				

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Females:	**No. Evaluated**	**22**	**22**	**22**	**22**
	DG 7-10	21.0 g/day	+4.3	+1.0	+16.2**
	DG 10-13	22.1 g/day	+10.4	+4.1	+16.7**
	DG 0-13	21.0 g/day	+9.0	+2.9	+7.6
	Mean No. Estrous Cycles/14 days, Precohabitation	3.18	3.09	3.00	2.18××
	Persistent Diestrus, Precohabitation[b]	0	0	0	9••
	Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.4	2.4	2.7
	No. of Females Sperm Positive	21	21	22	22
	No. of Pregnant Females	20	22	20	19
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Mean No. Corpora Lutea	16.9	17.4	16.3	15.4
	Mean No. Implantations	14.8	14.4	14.0	13.7
	Mean % Preimplantation Loss	11.3	15.6	12.5	10.5
	Mean No. Live Embryos	13.8	13.4	13.0	12.8
	Mean No. Dead Embryos	1.1	1.0	1.0	0.8
	Mean % Postimplantation Loss	7.5	7.1	6.7	7.1

Abbreviations: - = No noteworthy findings; DG = Day of Gestation; DS = Day of Study
Statistical Tests: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's Test); × $p \leq 0.05$; ×× $p \leq 0.01$ (Dunn's Test); • $p \leq 0.05$;•• $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact Test)

[a] All deaths occurred prior to the cohabitation period. A perforation in the trachea was observed in the control group animal at necropsy; therefore, this death and clinical observations were not attributed to acoramidis.

[b] The number presented is the number of animals with the observation.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Test article-related changes to organ weights and organ weights relative to (%) terminal body weight were considered secondary to the lower mean terminal body weight of the males.

[e] Sperm evaluations included motility and density

2.6.7.13. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on EmbryoFetal Development (Pivotal)

13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development in Rats

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development and Toxicokinetics Study with AG10 in Rats		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing**: GD 6 through 17	**Study No.** 8411734
Initial Age: 11-12 weeks old	**Day of Mating**: GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Cesarean Section**: GD 21	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (400 cps) in deionized water		**Method of Administration**: Oral gavage
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 1000 mg/kg/day, F_1 Litters: 1000 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Females:				
Toxicokinetics: GD 12 Acoramidis				
AUC_{0-24} (hr*µg/mL)	BLQ	73.5	1630	3720
C_{max} (µg/mL)	BLQ	23.1	171	281
Toxicokinetics: GD 12 Acoramidis acylglucuronide				
AUC_{0-24} (hr*µg/mL)	BLQ	12.1	368	1610
C_{max} (µg/mL)	BLQ	4.93	40.7	164
No. Pregnant	22	21	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. with No Viable Fetuses	0	0	0	2
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain GD 6 through 18 (%)[a]	104.4 g	-	-	-36.9#r
Body Weight Gain GD 6 through 21 (%)[a]	130.3 g	-	-	-21.9+r
Food Consumption GD 6 through 18 (%)[a]	310.0 g	-	-	-18.6
Food Consumption GD 18 through 21 (%)[a]	69.0 g	-	-	+14.6*H

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Litters:				
Mean No. Corpora Lutea	13.5	14.3	14.0	14.0
Mean No. Implantation Sites	12.0	12.0	12.3	12.6
Mean % Pre-implantation Loss	9.61	15.19	12.15	10.25
No. Litters Evaluated	22	21	22	22
Mean No. Live Fetuses	11.4	11.6	11.7	10.2
Mean No. Total Resorptions	0.6	0.4	0.5	2.4
Mean No. of Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	4.54	4.09	5.41	18.45
Mean Adjusted Fetal Body Weight (g)	5.797	5.771	5.754	5.371*H
Mean Fetal Sex Ratios (% Males)	56.5	57.0	46.5	46.2
Fetal Anomalies:				
External Anomalies	-	-	-	-
Fresh Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-

Abbreviations: - = No test article-related findings were observed; GD = Gestation Day; BLQ = Below the limit of quantitation
#r = Wilcoxon rank Sum Test Significant at 0.001 level; +r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level;
*H = Dunnett Exact Homogeneous Test Significant at 0.05 level
a For controls, group means are shown. For treated groups, percent changes from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development in Rabbits

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Developmental and Toxicokinetic Study with AG10 in Rabbits		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF	**Duration of Dosing**: GD 7 through 19	**Study No.**: 8411735
Initial Age: 5 months old	**Day of Mating**: GD 0	**Location in CTD**: 4.2.3.5.2
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Day of Cesarean Section**: GD 29	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (400 cps) in reverse osmosis water		**Method of Administration**: Oral gavage
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Levels: F_0 Females: 200 mg/kg/day, F_1 Litters: 200 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**25**	**75**	**200**
Females:				
Toxicokinetics: GD 13 AG10				
$AUC_{0\text{-}24}$ (hr*µg/mL)	BLQ	147	410	1400
C_{max} (µg/mL)	BLQ	19.7	117	319
Toxicokinetics: GD 13 AG10 acylglucuronide				
$AUC_{0\text{-}24}$ (hr*µg/mL)	BLQ	2.35	15.0	136
C_{max} (µg/mL)	BLQ	0.535	5.35	44.6
No. Pregnant	21	22	22	22
No. Accidental deaths[a] or Sacrificed Moribund	0	2	0	2
No.with No Viable Fetuses	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea	10.0	10.0	10.5	9.9
Mean No. Implantation Sites	9.3	9.0	9.7	8.6
Mean % Pre-implantation Loss	6.29	9.68	6.35	15.03*r

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary
ALXN2060 ATTR-CM

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**25**	**75**	**200**
Litters:				
No. Litters Evaluated	21	20	22	20
Mean No. Live Fetuses	9.2	8.8	9.5	8.2
Mean No. Total Resorptions	0.1	0.3	0.3	0.4
Mean No. of Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	1.01	2.52	3.40	4.90
Mean Adjusted Fetal Body Weight (g)	40.60	40.95	40.18	39.74
Mean Fetal Sex Ratios (% Males)	50.0	50.5	53.4	48.2
Fetal Anomalies:				
External Anomalies	-	-	-	-
Fresh Visceral Anomalies	-	-	-	-
Skeletal Anomalies	-	-	-	-

Abbreviations: - = No test article-related findings were observed; GD = Gestation Day; BLQ = Below the limit of quantitation
*r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level
[a] Accidental deaths due to oral gavage error for the two animals given 200 mg/kg and one animal given 25 mg/kg. The other female treated at 25 mg/kg was sacrificed moribund and her death was considered not to be treatment-related.

2.6.7.14. Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (Pivotal)

14A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development in Rats

Report Title: Oral Gavage Study for Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function, with AG10 in Rats		**Test Article:** Acoramidis (AG10)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(Sprague Dawley)	**Duration of Dosing**: GD 6 through LD 20	**Study No.**: 8411736
Initial Age at Dosing: 11-12 weeks	**Day of Mating**: GD 0	**Location in CTD**: 4.2.3.5.3
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Litters:** Culled on LD 4	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose, 400 cps in reverse osmosis water		**Method of Administration**: Oral Gavage
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 350 mg/kg/day, F_1 Males: 350 mg/kg/day, F_1 Females: 350 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
F_0 Females:				
No. Pregnant	22	20	22	21
No. Died, Sacrificed Moribund, or Total Litter Loss	1	0	0	3
No. with No Viable Fetuses	0	0	0	3
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain - Gestation (%)[a]				
GD 6-20	128 g	+5.5	-7.8	-44.5***
Body Weight Gain - Lactation	-	-	-	-
Food Consumption - Gestation (%)[a]				
GD 6-20	358 g	+5.3	-5.3	-17.0***
Food Consumption - Lactation	-	-	-	-
Mean Duration of Gestation (days)	23.0	23.2	23.3	23.0
Abnormal Parturition	0	0	0	0

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
F_1 Litters (Preweaning):				
No. Litters Evaluated	22	20	22	16
No. of animals delivering and females with liveborn pups (%)	100	100	100	76*f
Mean No. of Implantation Sites	13.91	13.60	13.95	12.05*r
Mean No. Pups Delivered	12.64	12.70	13.27	10.81*r
No. of live born pups	12.55	12.65	13.18	10.75*r
Mean No. Pups Alive Day 1	12.48	12.45	12.91	9.63#r
Mean No. Pups Alive Day 4 (Before Cull)	12.48	12.45	12.77	10.13+r
Mean No. Pups Alive Day 4 (After Cull)	7.95	7.95	8.00	7.60
Mean No. Pups Alive Day 21	7.95	7.95	8.00	7.47
No. of Total Litter Deaths	1	0	0	1
Pup Body Weights (%)[a]				
PND 1 Male[b]	7.72 g	+3.2	-1.7	-25.5#H
PND 1 Female[b]	7.32 g	+2.5	-1.5	-25.3#H
PND 4 Male[c]	10.84 g	+5.4	-0.5	-10.8*H
PND 4 Female[c]	10.46 g	+4.1	-0.6	-10.8*H
PND 7 Male	17.98 g	+4.8	-0.9	-11.0+H
PND 7 Female	17.26 g	+5.6	-0.5	-11.1+H
PND 14 Male	36.61 g	+2.4	-3.1	-12.0#H
PND 14 Female	35.56 g	+2.1	-3.0	-12.3#H
PND 21 Male	59.03 g	+1.9	-2.9	-12.3#H
PND 21 Female	57.49 g	+1.9	-2.8	-13.1#H
Mean % Male Pups Day 1	50	44	46	56
Pup Clinical Observations	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
F_1 Males (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-
Body Weight (%)[a]				
Male (MA 0)	94 g	+4.3	-4.3	-10.6***
Food Consumption	-	-	-	-
Landmark Data	-	-	-	-
Mean Age of Balano Preputial Separation (days)	46.3	44.4+r	44.6+r	45.7
Motor Activity	-	-	-	-
Acoustic Startle	-	-	-	-
Learning and Memory (overall values)				
Spatial Latency to Platform	19.7 s	22.6 s	22.6 s	28.3 s*
Spatial Path Length	5.086 m	5.795 m	6.197 m	7.418 m*
Cued Latency to Platform	42.1 s	41.7 s	46.9 s	56.3 s*
Cued Path Length	11.594 m	11.852 m	13.745 m	16.496 m*
No. of Males that Mated	19	20	20	19
No. of Fertile Males	15	19	20	19
F_1 Females (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (%)[a]				

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**50**	**350**	**1000**
Female (MA 0)	90 g	+5.6*	-4.4	-11.1***
Female (MA 7)	134 g	+7.5**	-3.0	-7.5**
Food Consumption	-	-	-	-
Estrous Cycle	-	-	-	-
Landmark Data	-	-	-	-
Mean Age of Vaginal opening (days)	33.2	33.2	33.3	33.5
Motor Activity	-	-	-	-
Acoustic Startle	-	-	-	-
Learning and Memory (overall values)				
Spatial Latency to Platform	24.7 s	23.9 s	27.3 s	29.7 s*
Spatial Path Length	6.297 m	6.378 m	7.426 m	8.015 m*
Cued Latency to Platform	42.8 s	39.2 s	48.2 s	46.2 s
Cued Path Length	12.872 m	11.573 m	14.452 m	14.745 m
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.4	2.0	2.6
No. of Females with Confirmation of Mating	19	20	20	20
No. of Pregnant Females	15	19	20	20
Mean No. Corpora Lutea	16.5	17.7	17.8	16.9
Mean No. Implantation Sites	14.9	16.0	16.3	16.3
Mean % Pre-implantation Loss	9.34	9.17	8.17	3.65
F_2 Litters:				
Mean No. Early Resorptions	1.3	1.4	0.8	0.8
Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	9.48	8.40	4.61	5.09
Mean No. Live Fetuses	13.6	14.7	15.5	15.5

Abbreviations: - = No noteworthy findings; g = grams; s = seconds; m = meters; GD = Gestation day; LD = Lactation day; MA = Maturation Day; PND = Postnatal Day;
* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; *f = Fisher 1-tail Descending Test significant at the 0.05 level; #H = Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.001 level; *H = Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: 0.05 level; +H = Dunnett Exact Homogenous Test Significant: 0.01 level; *r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level; #r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.001 level; +r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.01 level

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[b] Covariate adjusted.
[c] Postcull.

2.6.7.15. Studies on Juvenile Animals

No studies have been conducted on juvenile animals with acoramidis.

2.6.7.16. Local Tolerance

No dedicated local tolerance studies were conducted with acoramidis as medicinal products intended for oral administration do not require such a study.

2.6.7.17. Other Toxicity Studies

17A Other Toxicity: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of Acoramidis in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Test Article: Acoramidis (AG10)

Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Doses (concentrations tested)**	**No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study No.**
BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In Vitro	Promethazine (positive control): 0.1, 0.316, 1.0, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 178 µg/mL Acoramidis: 1.78, 3.16, 5.62, 10.0, 17.8, 31.6, 56.2, 100 µg/mL	Not Applicable	There were no noteworthy findings.	20[redacted]8057