Table of Contents

1 まとめ....9
2 分析法....11
3 吸収....12
3.1 マウスにおける単回投与時の薬物動態....12
3.1.1 雄性 C57BL/6 マウスにおける単回経口及び静脈内投与....12
3.1.2 雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与....13
3.2 ラットにおける単回投与時の薬物動態....14
3.2.1 ラットにおける単回経口及び静脈内投与....14
3.2.2 ラットにおける食餌の影響に関する評価....16
3.3 イヌにおける単回投与時の薬物動態....16
3.3.1 イヌにおける単回静脈内及び経口投与....16
3.3.2 粒子径が吸収に及ぼす影響の評価....18
3.3.3 イヌにおける食餌の影響に関する評価....19
3.4 サルにおける単回投与時の薬物動態....19
3.5 雄性 129SvEv マウスにおける反復投与時の薬物動態....20
3.6 ラットにおける反復投与時の薬物動態....21
3.6.1 ラットにおける 6 週間反復経口投与....21
3.6.2 妊娠ラットにおける反復経口投与....23
3.7 妊娠ウサギにおける反復経口投与時の薬物動態....23
3.8 イヌにおける反復投与時の薬物動態....24
3.9 膜透過性....25
4 分布....26
4.1 ラットにおける組織分布....26
4.1.1 [^{14}C]マバカムテンを用いた定量的全身オートラジオグラフィー....26
4.1.2 横紋筋中のマバカムテン濃度の測定....26
4.2 イヌにおける組織分布....27
4.3 血漿蛋白結合....27
4.4 血球移行性....27
4.5 胎盤通過性....27
5 代謝....27
5.1 In vitro 代謝安定性....27
5.2 各動物種における in vitro 代謝の比較....28
5.3 CYP 分子種の同定....29
5.4 ラットの血漿中、尿中及び胆汁中の代謝物プロファイル....30
5.5 ラットにおける初回通過代謝の評価....31
6 排泄....31
7 薬物動態学的薬物相互作用....31

7.1 薬物代謝酵素の阻害及び誘導 31
7.1.1 In vitro における CYP 阻害能 31
7.1.2 In vitro における時間依存的阻害能 32
7.1.3 In vitro における CYP 誘導能 32
7.2 トランスポーターを介した薬物相互作用に関する in vitro 評価 34
8 その他の薬物動態試験 36
9 考察及び結論 36
10 参考文献 38

List of Tables

Table 3.1.1-1: 雄性 C57BL/6 マウスにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 13

Table 3.1.2-1: 雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与後の薬物動態パラメータ 14

Table 3.2.1-1: 雄性ラットにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］ 15

Table 3.2.1-2: 雌雄ラットにおける単回経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ（平均値） 16

Table 3.3.1-1: 雄性イヌにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］ 17

Table 3.3.1-2: 雌雄イヌにおける単回経口投与後の薬物動態パラメータ（平均値） 18

Table 3.3.2-1: イヌにおいて種々の粒子径のマバカムテン及び剤形を単回投与したときの曝露量及びバイオアベイラビリティ（n=3） 19

Table 3.4-1: 雄性サルにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］ 20

Table 3.5-1: 雄性 129SvEv マウスにおける 5 日間反復経口投与後の血漿中及び心臓組織中マバカムテン濃度 21

Table 3.6.1-1: 雄性ラットにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 22

Table 3.6.1-2: 雌性ラットにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 22

Table 3.6.2-1: 妊娠ラットにおける 7 日間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 23

Table 3.7-1: 妊娠ウサギにおける 7 日間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 24

Table 3.8-1: 雄性イヌにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 24

Table 3.8-2: 雌性イヌにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 25

Table 5.4-1: ラットにおける[^{14}C]マバカムテン単回経口又は静脈内投与後の未変化体及び代謝物プロファイル 30

Table 7.1.3-1: CYP 誘導を介した薬物相互作用の予測 33

Table 7.2-1: トランスポーター阻害を介した薬物相互作用の予測 36

List of Figures

Figure 3.1.1-1: 雄性 C57BL/6 マウスにおける単回静脈内（1 mg/kg）及び経口投与（1 mg/kg）時の平均血漿中濃度推移 13

Figure 3.1.2-1: 雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与（2.5 mg/kg）時の平均血漿中及び心臓組織中濃度推移 14

Figure 3.2.1-1: 雄性ラットにおける単回静脈内（1 mg/kg）及び経口投与（2 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］ 15

Figure 3.3.1-1: 雄性イヌにおける単回静脈内（0.25 mg/kg）及び経口投与（0.5 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］ 17

Figure 3.4-1: 雄性サルにおける単回静脈内（0.25 mg/kg）及び経口投与（0.5 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］ 20

Figure 5.2-1: 肝細胞における[^{14}C]マバカムテンの推定代謝経路 29

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
API	active pharmaceutical ingredient	原薬
A to B	apical to basolateral	頂端膜側から基底膜側
AUC	area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
AUC(0-Xh)	area under the concentration-time curve from time 0 to X hours	投与後 0 時間から X 時間までの濃度時間曲線下面積
AUC(0-t)	area under the concentration-time curve from time 0 to the last time point	0 時間から濃度測定最終時間までの濃度時間曲線下面積
AUC(INF)	area under the concentration-time curve from time 0 extrapolated to infinity	0 時間から無限時間までの濃度時間曲線下面積
AUC(last)	area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable time point	0 時間から濃度測定可能最終時間までの濃度時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BDC	bile duct-cannulated	胆管カニューレ挿入
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩輸送ポンプ
B to A	basolateral to apical	基底膜側から頂端膜側
CL	clearance	クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DMA	dimethylacetamide	ジメチルアセトアミド
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
Dv50	median particle diameter by volume	体積による粒子径中央値
EC50	concentration at 50% of maximal induction effect	最大効果の 50%の効果をもたらす濃度
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
Emax	maximal fold induction	最大誘導作用
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
Fa	fraction absorbed	消化管からの吸収率
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
Fg	intestinal availability	消化管内代謝を免れた薬物の割合
fm	fraction metabolized	-
fup	unbound fraction in plasma	血漿中非結合形分率
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎

略号	英語	日本語
HPβCD	(2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin	2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC50	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Igut	intestinal luminal concentration	消化管内の予測最高濃度
Iin,max	estimated maximum plasma inhibitor concentration at the inlet to the liver	肝門脈における血漿中推定最大濃度
Imax	maximal plasma concentration at steady-state	定常状態における Cmax
Imax,u	maximal unbound plasma concentration at steady-state	定常状態における非結合形 Cmax
IV	intravenous	静脈内
ka	absorption rate constant	吸収速度定数
K_I	inhibitor concentration producing half-maximal inactivation	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	maximal inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
LC	liquid chromatography	液体クロマトグラフィー
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出蛋白
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NTCP	sodium taurocholate co-transporting polypeptide	タウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
P_{app}	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
PBPK	physiologically-based pharmacokinetic	生理学的薬物速度論
PEG400	polyethylene glycol 400	ポリエチレングリコール 400
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態

略号	英語	日本語
PO	*Per os*, oral	経口
Q_H	hepatic blood flow rate	肝血流速度
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RB	blood-to-plasma concentration ratio	血液／血漿比
T-HALF	half-life	消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
Tmax	time at which Cmax is observed	最高血漿中濃度到達時間
Vss	volume of distribution at steady-state	定常状態分布容積

1 まとめ

マバカムテン（別名 MYK-461、BMS-986427 又は SAR439152）は、心筋サルコメアの運動単位であるミオシンでアデノシン三リン酸加水分解サイクルを選択的かつ可逆的に阻害することによって、心筋内の力の発生機構における収縮及び拡張機能を直接調節する新規の低分子化合物である。

マバカムテンの非臨床薬物動態（PK）について、複数の動物モデルにおいて評価した。非臨床 PK 試験の目的は、毒性試験の妥当性の支持、マウス、ラット、イヌにおける in vivo の薬力学的・血行動態学的用量－反応相関性及び曝露－反応相関性の検討並びに動物疾患モデルにおける投与に関する情報提供であった。また、各動物種における分布及び排泄経路の特定並びにチトクローム P450（CYP）及びトランスポーターを介した薬物相互作用（DDI）の可能性についても評価することであった。マバカムテンをマウス、ラット、イヌ及びサルに静脈内又は経口投与して PK 特性を明らかにするとともに、これらの試験結果は、ヒトの PK 予測にも用いた。

マウス、ラット、イヌ及びサルにマバカムテンを単回静脈内投与後、いずれの動物種においても、急速な分布相と緩やかな消失相からなる二相性の血漿中濃度推移を示した。マウス、ラット、イヌ及びサルにおけるクリアランス（CL）は、それぞれの動物種の肝血流量の報告値[1]の 2%未満～10.5%に相当した。また、非臨床動物種における定常状態分布容積（Vss）は 3.81～10.6 L/kg と各動物種の総体液量の報告値 [1] より大きかった。消失半減期（T-HALF）はマウス、ラット及びサルで 7.02～44.5 時間、イヌで 130 時間であった。マバカムテンを溶液又は懸濁液として経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 46%超であった。ラットにおいて、マバカムテンを 0.3～3 mg/kg/day の用量で反復経口投与したときの Day 1 及び Week 6 の最高血漿中濃度（Cmax）及び投与後 0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積（AUC(0-24h)）はいずれも概して用量に比例して増加した。一方、イヌにおいてマバカムテンを 0.1～3 mg/kg/day の用量で反復経口投与した結果、Cmax 及び AUC(0-24h)は Day 1 に 0.1～3 mg/kg/day の用量範囲で用量比以下の増加を示し、Week 6 に 0.1 及び 0.3 mg/kg/day で用量に比例して増加した。0.1～0.3 mg/kg/day の用量で Week 6 の Cmax 及び AUC(0-24h)はいずれも Day 1 と比べて高く、AUC(0-24h)値に基づくと 6.3～9.4 倍の蓄積が認められた。

Caco-2 細胞において、マバカムテンは 1～200 μM の濃度で高い膜透過性及び低い P 糖蛋白（P-gp）基質性を示した。

有色ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験で、[^{14}C]マバカムテンは速やかに吸収され、広範な組織に分布した。高い放射能濃度が認められた組織は、心筋、横隔膜、肝臓、唾液腺、骨格筋及び食道であった。血液脳関門により保護されている中枢神経系組織における放射能濃度は低かった。マバカムテンはメラニンに対する親和性をほとんど示さなかった。

分布試験の結果から、マバカムテンは横紋筋（心筋及び骨格筋）に高濃度に分布することが示され、マウス、ラット及びイヌにおける血漿中濃度に対する横紋筋中濃度の比は、それぞれ約 3、15 及び 20 であった。

[^{14}C]マバカムテンの血漿蛋白結合率は、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでそれぞれ 83.9%、89.0%、91.1%、95.1%及び 93.1%であった。

In vitro における代謝安定性について、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット及びヒトの肝細胞で評価した結果、いずれの動物種の肝ミクロソームにおいてもマバカムテンの代謝は緩やかであった。肝ミクロソームにおける固有クリアランスより推定した肝クリアランスは、各動物種における肝血流量の報告値の 2%～7%に相当した。ラット及びヒト肝細胞で同様の代謝安定性が認められ、推定した肝クリアランス値は肝血流量の報告値の 12%未満に相当した。

In vitro の代謝物プロファイルは、肝ミクロソーム及び肝細胞におけるマバカムテン及びその代謝物を液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）及び放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて評価した。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソームにおいて、代謝物プロファイルは定性的及び定量的に類似していることが示された。肝ミクロソームにおいて検出された主な代謝物は、MYK-2210（M1）、MYK-1078（M2）及び MYK-2241（M6）であり、MYK-2210 及び MYK-1078 はそれぞれ芳香族部分及びイソプロピル基の水酸化、MYK-2241 はフェニルエチル基の N-脱アルキル化により生成された。上記の代謝物に加えて、ラットの肝細胞では M4（MYK-2210 のグルクロン酸抱合体）及び M10（ウラシル基に $C_4H_6O_2$ が結合し生成）、サルの肝細胞では M11（フェニルエチル基の水酸化及びアミノウラシル基の加水分解により生成）及び M13（マバカムテンのアミノウラシル基の水酸化体のグルクロン酸抱合体）が認められた。ヒト肝ミクロソーム又は肝細胞で検出された代謝物は、いずれかの非臨床動物種でも検出された。

マバカムテンの代謝に寄与する CYP 分子種として CYP2C19、CYP3A4 及び CYP2C9 が同定され、寄与率はそれぞれ 74.3%、18.0%及び 7.6%であった。

雄性胆管カニューレ挿入（BDC）ラットに[^{14}C]マバカムテンを単回静脈内投与した結果、回収された放射能総量の平均値は 94.0%であり、投与後 48 時間までに投与量の約 70%が排泄された。胆汁中から投与量の 41.1%が回収された。尿中及び糞便中から投与量のそれぞれ 31.0%及び 7.59%が回収された。雄性無処置ラットに[^{14}C]マバカムテンを単回経口投与した結果、投与後 120 時間までに回収された放射能総量の平均値は 95.8%であった。ラットの血漿中で検出された主な代謝物は MYK-2210 及び MYK-1078 であり、これら代謝物はラットの肝ミクロソーム及び肝細胞中で生成された酸化代謝物であった。尿中で検出された主な放射性化合物は MYK-2210、MYK-1078、M4 及びごく低濃度の未変化体であった。単回経口又は静脈内投与後の尿中及び胆汁中のマバカムテンは投与量の 2%未満であったことから、マバカムテンの主な消失経路は酸化的代謝であることが示唆された。これら

の in vitro 及び in vivo の結果から、マバカムテンの主な消失経路は CYP による代謝であり、腎排泄は主要な消失経路でないことが示された。

ヒト肝ミクロソームにおいて、マバカムテンは 200 μM の濃度まで CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2D6 を阻害しなかった。マバカムテンは CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度に阻害したものの［50%阻害濃度（IC50）はそれぞれ 82.2、89.7 及び 175 μM］、いずれも臨床における治療濃度より高い濃度であった。IC50 シフト法において、マバカムテンは CYP2C19 及び CYP2D6 を時間依存的に阻害することが示されたが、その後実施した試験で推定したこれら CYP の最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）及び最大不活性化速度定数（k_{inact}）に基づくと、臨床における治療濃度範囲で時間依存的阻害が認められる可能性は低いことが示された。

ヒト肝細胞において、マバカムテンは CYP2B6 及び CYP3A4 のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現及び酵素活性を濃度依存的に増加させた。さらに、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 の mRNA 発現量を増加させる可能性も示唆されたが、臨床 DDI 試験及び生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを用いたシミュレーションの結果も踏まえ、これら CYP の誘導を介した DDI を引き起こす可能性は低いことが示された。

マバカムテンは P-gp、肝トランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）、有機カチオントランスポーター（OCT）1 及びタウロコール酸ナトリウム共輸送ポリペプチド（NTCP）並びに腎トランスポーターである有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3 及び OCT2 の基質でないことが示された。In vitro 試験で、主要な排出トランスポーター［P-gp、乳癌耐性蛋白（BCRP）、胆汁酸塩輸送ポンプ（BSEP）、多剤・毒性化合物排出蛋白（MATE）1 及び MATE2-K］並びに取込みトランスポーター（OATP、OCT 及び OAT）の阻害能を評価した結果、MATE1 の IC50 は 22.6 μM であったが、臨床における治療濃度より高い濃度であった。その他のトランスポーターは阻害しなかったか、IC50 が 70 μM 超であったことから、これらトランスポーターの阻害を介した DDI を引き起こす可能性が低いことが示唆された。

マバカムテンの非臨床薬物動態試験の結果から、マバカムテンの PK 並びに吸収、分布、代謝及び排泄の特性が確認され、有効性及び毒性試験の有益な情報として利用された。

2 分析法

マバカムテンの各種 PK 試験、毒性試験及びマスバランス試験で用いる生体試料分析法として、マバカムテン及び鏡像異性体である MYK-460 の測定に LC-MS/MS 法並びに[^{14}C]マバカムテンの測定に放射能定量法が開発された。

マウス、ラット、イヌ及びサルの血漿中並びにマウス、ラット及びイヌの組織（心筋及び骨格筋）中のマバカムテン濃度は、生体試料を除蛋白処理後、LC-MS/MS 法を用いて測定した。医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）試験の実試料分析では、分析法バリデーションによって確立された分析法を用いて安定性が確認された期間内に検量線濃度範囲内で測定した。

マウス、ラット、ウサギ及びイヌの血漿中のマバカムテン濃度測定に用いた分析法バリデーションは、米国食品医薬品局（FDA）のガイダンス「Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation」（2013年）に準拠した。LC-MS/MS法を用いたマバカムテン及びMYK-460の検量線範囲はそれぞれ1～2000 ng/mL及び0.250～500 ng/mLであった。なお、クロマトグラフ分離にキラル逆相カラムを用いた。

生体試料中の放射能濃度は、液体シンチレーションカウンター又は放射能検出器付き HPLC を用いて定量した。酸化効率について、試料燃焼を行った当日に市販の標準物質ラベル体をシンチレーションカクテルで直接又は酸化反応を測定し評価した。合否基準は燃焼回収率95%～105%とした。

3 吸収

3.1 マウスにおける単回投与時の薬物動態

3.1.1 雄性C57BL/6マウスにおける単回経口及び静脈内投与

雄性 C57BL/6 マウスにマバカムテンを単回経口及び静脈内投与したときの PK パラメータについて評価した（試験番号 NC-14-0015）。経口及び静脈内投与のいずれの投与経路においても、1 mg/kgの用量で投与し、媒体としてジメチルアセトアミド（DMA）：ポリエチレングリコール 400（PEG400）：生理食塩液（5:10:85）の混合液を用いた。

マバカムテンの平均血漿中濃度推移を Figure 3.1.1-1、PK パラメータを Table 3.1.1-1 に示す。静脈内及び経口投与後の PK パラメータは、1 測定時点あたり 3 匹のマウスの血漿中濃度の平均値より算出した。静脈内投与後、マバカムテンの血漿中濃度は、急速な分布相と緩やかな消失相からなる二相性の推移を示し、T-HALF は 7.02 時間であった。平均血漿 CL は 7.65 mL/min/kg と小さく、マウスの肝血流量報告値[1]の 8.5%であった。Vss は 3.81 L/kg と大きく、マウスの総体液量の報告値[1]の約 5 倍であった。

経口投与後の Cmax 及び 0 時間から無限時間までの濃度時間曲線下面積（AUC(INF)）はそれぞれ 564 ng/mL 及び 3170 ng•h/mL であった。絶対的バイオアベイラビリティ（F）は 145%であったことから、経口投与したマバカムテンが完全に吸収されることが示唆された。

Figure 3.1.1-1: **雄性 C57BL/6 マウスにおける単回静脈内（1 mg/kg）及び経口投与（1 mg/kg）時の平均血漿中濃度推移**

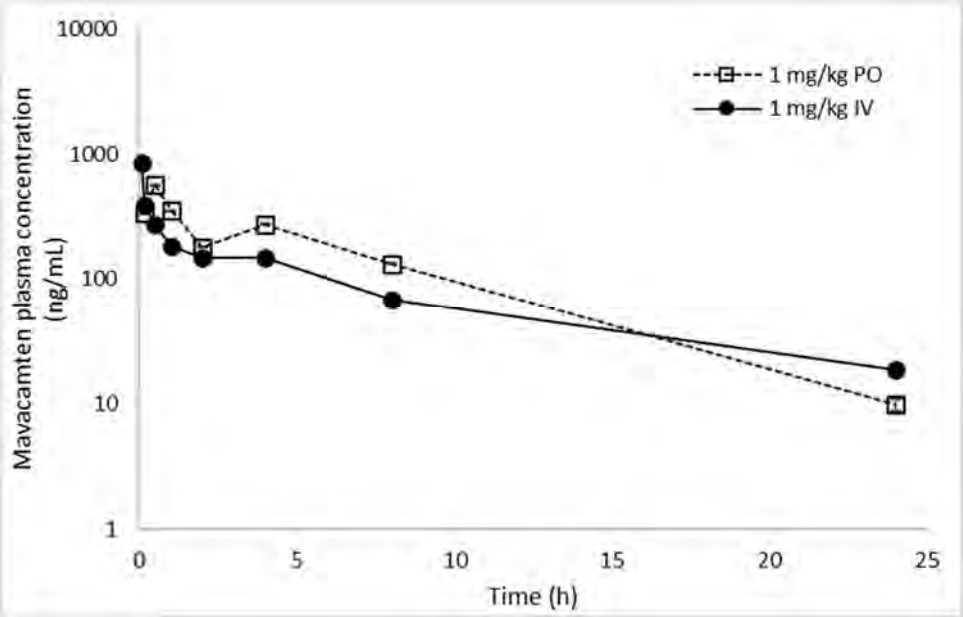


Table 3.1.1-1: **雄性 C57BL/6 マウスにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ**

Route	Dose (mg/kg)	T-HALF (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	AUC(last) (ng•h/mL)	AUC(INF) (ng•h/mL)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	F (%)
IV	1	7.02	NA	853	1990	2180	7.65	3.81	NA
PO	1	4.18	0.5	564	3110	3170	NA	NA	145

NA = not applicable.

3.1.2 雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与

雄性 129SvEv マウスにマバカムテンを単回経口投与したときの血漿及び心臓組織における PK パラメータを算出し、マウス左心室肥大モデルにおける投与量及び投与頻度設定の参考とした（試験番号 NC-14-0016）。媒体として、DMA：PEG400：30% 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HPβCD）（5:25:70）混合液を用い、2.5 mg/kg の用量で経口投与した。

血漿中及び心臓組織中の濃度推移を Figure 3.1.2-1、PK パラメータを Table 3.1.2-1 に示す。経口投与後の血漿中及び心臓組織中の PK パラメータは、1 測定時点あたり 3 匹のマウスの血漿中及び心臓組織中濃度の平均値より算出した。その結果、血漿中のマバカムテン濃度は速やかに最高値に到達し、投与後 6 時間まで血漿中濃度を維持した後に消失相に移行し、T-HALF は 6.40 時間であった。マバカムテンを経口投与したときの Cmax は 1120 ng/mL、AUC(INF)は 16100 ng•h/mL であった。心臓組

織中濃度推移は血漿中濃度推移と類似していたものの、測定期間を通じて血漿中濃度の約 3.5 倍高値を示した。

Figure 3.1.2-1: **雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与（2.5 mg/kg）時の平均血漿中及び心臓組織中濃度推移**

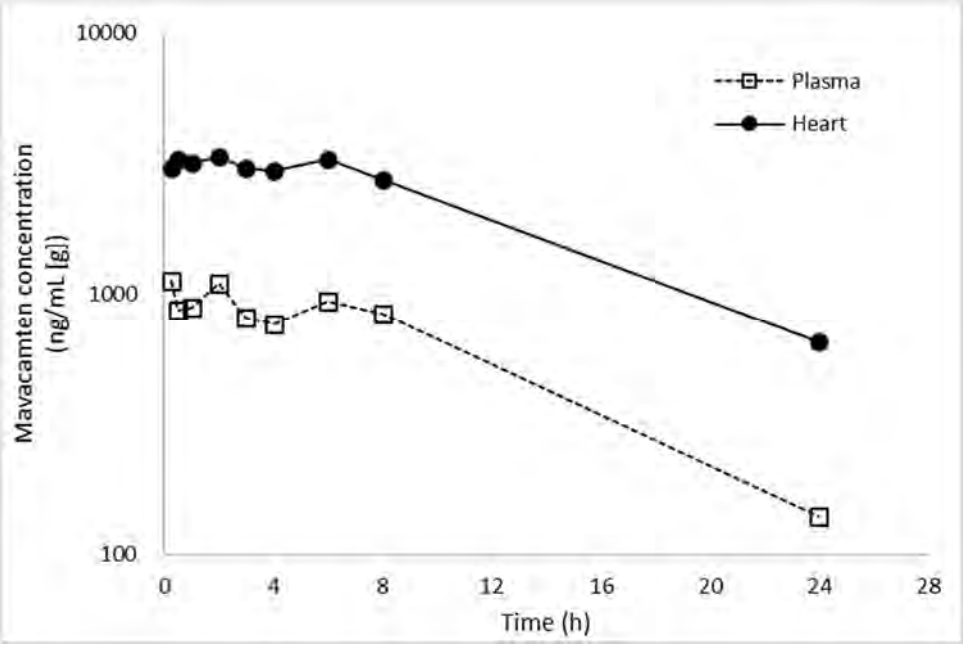


Table 3.1.2-1: **雄性 129SvEv マウスにおける単回経口投与後の薬物動態パラメータ**

Tissue	Dose (mg/kg)	T-HALF (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL) or (ng/g tissue)	AUC(last) (ng•h/mL) or (ng•h/g tissue)	AUC(INF) (ng•h/mL) or (ng•h/g tissue)
Plasma	2.5	6.40	0.25	1120	14800	16100
Heart		7.70	2.0	3360	51700	58900

3.2 ラットにおける単回投与時の薬物動態

3.2.1 ラットにおける単回経口及び静脈内投与

雄性 Sprague Dawley ラットにマバカムテンを単回静脈内又は経口投与したときの PK について評価した（試験番号 NC-14-0018）。媒体として DMA：PEG400：30% HPβCD（5:25:70）混合液を用い、静脈内投与は 0.2 及び 1 mg/kg 並びに経口投与は 2 及び 10 mg/kg の用量で投与した。

マバカムテンを 1 mg/kg の用量で単回静脈内及び 2 mg/kg の用量で単回経口投与したときの平均血漿中濃度推移を Figure 3.2.1-1、PK パラメータを Table 3.2.1-1 に示す。マバカムテンを静脈内投与した結果、マバカムテンの血漿中濃度は急速な分布相及び緩やかな消失相からなる二相性の推移を示し、T-HALF は 11.2 時間であった。平均 CL は 5.82 mL/min/kg であり、ラットの肝血流量の報告値 [1] の

10.5%に相当した。平均 Vss は 5.01 L/kg と高く、総体液量の報告値[1]の約 8 倍であった。マバカムテンを 2 mg/kg の用量で経口投与したときの Cmax 及び AUC(INF)はそれぞれ 522 ng/mL 及び 4310 ng•h/mL であり、絶対的バイオアベイラビリティは 74.8%であった。

Figure 3.2.1-1: **雄性ラットにおける単回静脈内（1 mg/kg）及び経口投与（2 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］**

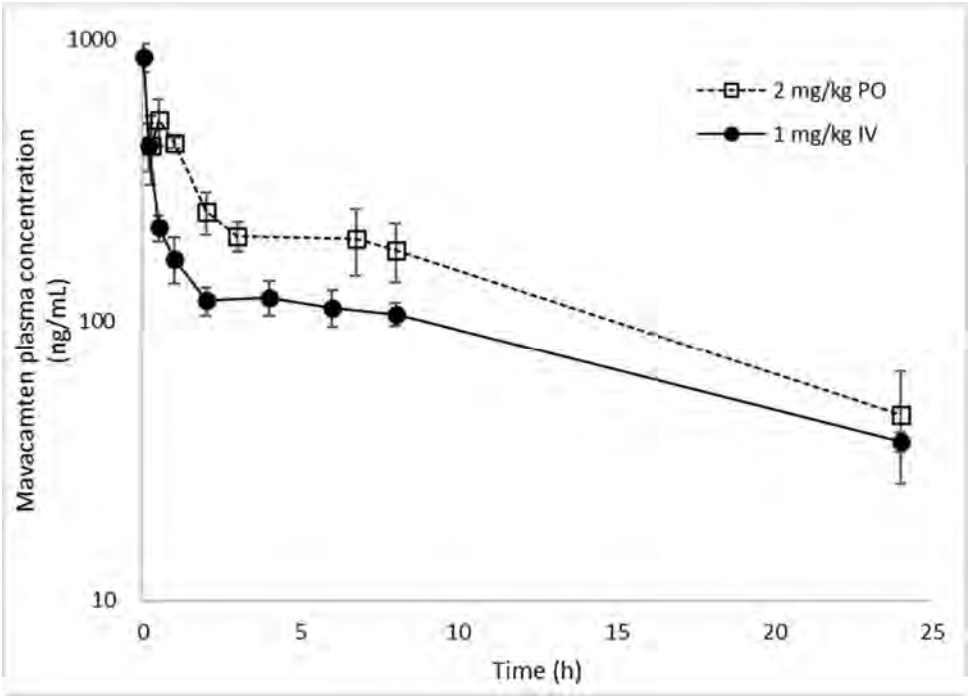


Table 3.2.1-1: **雄性ラットにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］**

Route	Dose (mg/kg)	T-HALF (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	AUC(last) (ng•h/mL)	AUC(INF) (ng•h/mL)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	F (%)
IV	1	11.2 (9.30)	NA	869 (12.0)	2290 (10.7)	2880 (9.10)	5.82 (8.70)	5.01 (14.5)	NA
PO	2	8.20 (12.5)	0.7 (43.3)	522 (17.9)	3750 (21.0)	4310 (25.5)	NA	NA	74.8 (25.6)

NA = not applicable.

雌雄ラットにおけるマバカムテンの線形性について、14 日間反復経口投与毒性試験の Day 1 の試験結果を用いて検討した（試験番号 NC-14-0066）。雌雄 Sprague Dawley ラットにマバカムテンを 1、3 及び 10 mg/kg の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し投与した（雌雄各群 3 匹）。

平均トキシコキネティクス（TK）パラメータを Table 3.2.1-2 に要約する。単回経口投与した結果、Cmax 及び AUC(0-24h)に顕著な性差は認められず、用量依存的に増加した。投与量で補正した Cmax 及び AUC(0-24h)は、雄でそれぞれ 98.9～110 及び 1600～1840、雌で 132～184 及び 1720～2290 で

あった。雄の 1、3 及び 10 mg/kg 群で T-HALF に顕著な差は認められなかったが、雌では高い用量で延長傾向が認められた。雌雄において、最高血漿中濃度到達時間（Tmax）は 1.7～4 時間であった。

マバカムテンを溶液及び懸濁液として経口投与したときの PK 及び TK パラメータを比較したところ、懸濁液では溶液と比較して Tmax の遅延（懸濁液：1.7～4 時間、溶液：0.7 時間）及び T-HALF の延長（懸濁液：13.8～25.7 時間、溶液：8.20 時間）が認められた以外は、パラメータに顕著な差は認められなかった。

Table 3.2.1-2: 雌雄ラットにおける単回経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ（平均値）

Sex	**Male**			**Female**		
Dose (mg/kg)	**1**	**3**	**10**	**1**	**3**	**10**
T-HALF (h)	14.6	15.6	16.1	13.8	25.7	23.2
Cmax (ng/mL)	98.9	331	1100	184	531	1320
Cmax/Dose[a]	98.9	110	110	184	177	132
Tmax (h)	2.7	1.7	2.7	1.8	2	4
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1600	5100	18400	1720	6520	22900
AUC(0-24h)/Dose[a]	1600	1700	1840	1720	2170	2290

[a] Dose normalized.

3.2.2 ラットにおける食餌の影響に関する評価

ラットにおいて食餌が吸収に及ぼす影響について評価した（試験番号 NC-14-0019）。原薬をカプセルに充填した製剤を、雄性 Sprague Dawley ラット（各群 3 匹）に 3.5 mg/kg の用量で経口投与した。

非絶食下で、T-HALF 及び Tmax への顕著な影響は認められなかった。絶食下に対する非絶食下の Cmax 及び AUC(0-24h)の比はそれぞれ 0.51 及び 0.76 であり、いずれの給餌条件下でも個体差は同程度であった。これらの結果から、ラットで食餌によりマバカムテンの AUC は減少（−24%）することが示された。

3.3 イヌにおける単回投与時の薬物動態

3.3.1 イヌにおける単回静脈内及び経口投与

雄性ビーグル犬にマバカムテンを単回静脈内又は経口投与したときの PK について評価した（試験番号 NC-14-0024）。In vitro の結果に基づくと、イヌにおけるマバカムテンの T-HALF は長いと推定されたため、初期の PK 試験は各群 3 匹の動物を使用した並行群間比較試験として実施した。マバカムテンの血漿中濃度は投与後 168 時間まで測定した。静脈内投与ではマバカムテンを DMA：PEG400：生理食塩液（5:10:85）混合液に調製して 0.25 mg/kg の用量で、経口投与では 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0.5 mg/kg の用量で、それぞれ投与した。

マバカムテンを単回経口又は静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移を Figure 3.3.1-1、PK パラメータを Table 3.3.1-1 に示す。マバカムテンをイヌに静脈内投与した結果、雄で CL は低値を示し（0.584 mL/min/kg）、肝血流量の報告値[1]の 2%未満に相当した。Vss は高値を示し（7.01 L/kg）、総体液量の報告値[1]の約 12 倍に相当した。マバカムテンは経口投与後に速やかに吸収され、Tmax は最も早い試料測定時点であった。Cmax は 186 ng/mL であり、血漿中濃度は速やかな分布相及び緩やかな消失相からなる二相性の推移を示した。AUC(0-168h)より算出したバイオアベイラビリティは 87.1%であった。静脈内及び経口投与後の T-HALF はそれぞれ 130 及び 161 時間であった。

Figure 3.3.1-1: **雄性イヌにおける単回静脈内（0.25 mg/kg）及び経口投与（0.5 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］**

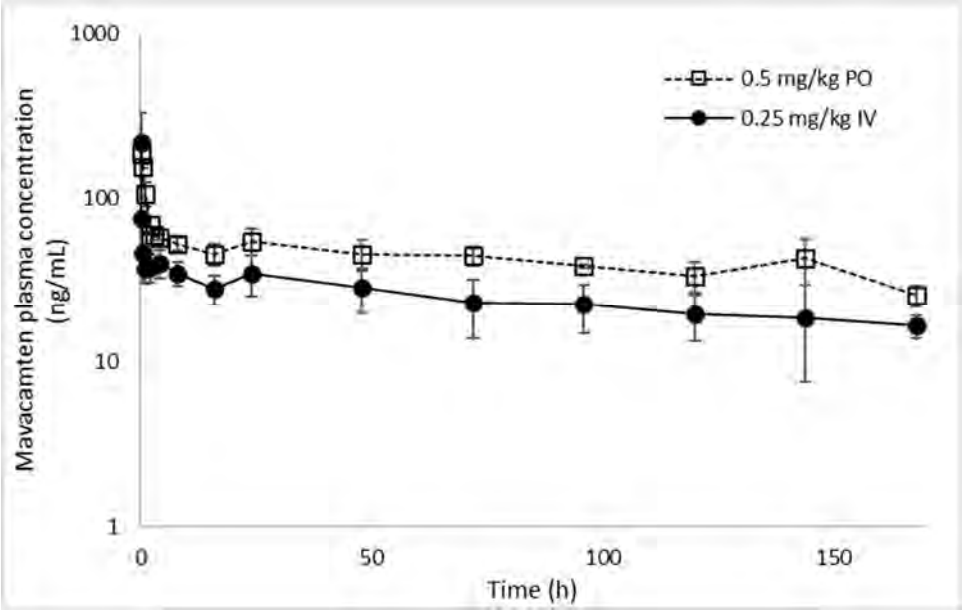


Table 3.3.1-1: **雄性イヌにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］**

Route	Dose (mg/kg)	T-HALF (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	AUC(last) (ng•h/mL)	AUC(INF) (ng•h/mL)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	F[a] (%)
IV	0.25	130 (15.7)	NA	219 (52.2)	4210 (30.2)	7330 (19.7)	0.584 (20.1)	7.01 (38.2)	NA
PO	0.5	161 (46.0)	0.3 (0.0)	186 (10.7)	7330 (10.4)	13500 (21.0)	NA	NA	87.1 (10.4)

[a] Calculated from AUC(last) (168 h postdose) not AUC(INF) due to extensive extrapolation of terminal phase.

雌雄ビーグル犬におけるマバカムテンの線形性について、6 週間反復経口投与毒性試験の Day 1 の試験結果を用いて検討した（試験番号 NC-15-0009）。イヌ（1 群雌雄各 4～6 匹）にマバカムテンを 0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。Day 1 における TK パラメータを Table 3.3.1-2 に要約する。

Table 3.3.1-2:　雌雄イヌにおける単回経口投与後の薬物動態パラメータ（平均値）

Sex	Male				Female			
Dose level (mg/kg/day)	**0.1**	**0.3**	**1**	**3**	**0.1**	**0.3**	**1**	**3**
Cmax (ng/mL)	33.4	60.1	150	296	33.6	56.1	178	370
Cmax/Dose[a] (ng/mL)/(mg/kg)	334	200	150	98.7	336	187	178	123
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	220	621	1720	3400	239	553	1630	4850
AUC(0-24h)/Dose[a] (ng•h/mL)/(mg/kg)	2200	2070	1720	1130	2390	1840	1630	1620

[a] Dose normalized.

平均 Cmax 及び AUC(0-24h)に性差は認められなかった。Day 1 における平均 Cmax 及び AUC(0-24h)は、0.1～3 mg/kg/day にかけて用量比以下の増加を示した。最高用量の 3 mg/kg/day で、Cmax 及び AUC(0-24h)は、線形性を示した場合の推定値と比べてそれぞれ約 67%及び約 40%低値であった。

3.3.2　粒子径が吸収に及ぼす影響の評価

マバカムテンの粒子径（表面積／体積比）が吸収に及ぼす影響について、単回投与 PK 試験で評価した（試験番号 NC-14-0024、NC-14-0025、NC-14-0026 及び NC-14-0064）。各種粒子径［体積による粒子径中央値（Dv50）として示す］のマバカムテンを以下に示す組合せで調製し、雄性ビーグル犬に 2 mg/kg の用量で単回経口投与して、PK パラメータを算出した。88 又は 4 µm 径の原薬は#2 ゼラチンカプセルに充填し、316 又は 88 µm 径の原薬は 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。さらにこれらの剤形と、4 µm 径の原薬の 2 種類の液体媒体（湿潤剤添加又は非添加 OraSweet・OraPlus 混合液）懸濁液を比較した。試験間の比較には、AUC(0-96h)を用いた。各剤形の AUC(0-96h)は、マバカムテンを溶液として静脈内投与後の用量で補正した曝露量と比較した。

マバカムテンの Dv50 及び剤形ごとの用量で補正した AUC(0-96h)及びバイオアベイラビリティを Table 3.3.2-1 に要約する。その結果、88 µm 径のマバカムテンをゼラチンカプセルに充填して投与したときのバイオアベイラビリティは 16%であった。0.5%メチルセルロース水溶液で懸濁した 88 及び 316 µm 径の原薬のバイオアベイラビリティはわずかに改善し、32%～35%であった。なお、懸濁液の調製過程で原薬と媒体を粉砕混合しているため、粒子径が減少している可能性がある。4 µm 径のマバカムテンをゼラチンカプセルに充填又は懸濁液として投与したときのバイオアベイラビリティはそれぞれ 64%及び 85%～108%であった。

Table 3.3.2-1: **イヌにおいて種々の粒子径のマバカムテン及び剤形を単回投与したときの曝露量及びバイオアベイラビリティ（n=3）**

Route	Lot	Particle size Dv50[a] (µm)	Formulation	AUC(0-96h)/Dose (ng•h/mL)/mg/kg)	F (%)
PO	[redacted][b]	316	0.5% methylcellulose[c]	3550	32
	[redacted][b]	88	Neat API in #2 gelatin capsule	1810	16
			0.5% methylcellulose[c]	3920	35
	[redacted]	4	Micronized neat API #2 in gelatin capsule	7160	64
			OraSweet/OraPlus + wetting agents	9550	85
			OraSweet/OraPlus (50:50)	12100	108
IV	[redacted][b]	solution	DMA:PEG400:normal saline (5:10:85)	11200	100

API = active pharmaceutical ingredient.

[a] Dv50 is the median particle diameter by volume.
[b] MyoKardia Medicinal Chemistry assigned lot number.
[c] The 0.5% methylcellulose suspensions were triturated.

3.3.3 イヌにおける食餌の影響に関する評価

イヌにおいて食餌が吸収に及ぼす影響について評価した（試験番号 NC-14-0026）。媒体として 0.5%メチルセルロース水溶液を用いて調製し、雄性ビーグル犬（3 匹）に 2 mg/kg の用量で経口投与した。

非絶食下で、T-HALF 及び Tmax への顕著な影響は認められなかった。絶食下に対する非絶食下の Cmax 及び AUC(0-24h)の比はいずれも 1.01 であり、いずれの給餌条件下でも個体差は同程度であった。これらの結果から、イヌでは食餌がマバカムテンの吸収に及ぼす影響は軽微であることが示された。

3.4 サルにおける単回投与時の薬物動態

雄性カニクイザルにマバカムテンを単回経口又は静脈内投与したときの PK について評価した（試験番号 NC-14-0028）。静脈内投与ではマバカムテンを DMA：PEG400：生理食塩液（5:10:85）混合液に調製して 0.25 mg/kg の用量で、経口投与では OraSweet：OraPlus（50:50）混合液に懸濁して 0.5 mg/kg の用量で、それぞれ投与した。

マバカムテンを単回経口又は静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移を Figure 3.4-1、PK パラメータを Table 3.4-1 に示す。マバカムテンを単回静脈内投与した結果、血漿中濃度は速やかな分布相及び緩やかな消失相からなる二相性の推移を示し、T-HALF は 44.5 時間であった。CL は 2.98 mL/min/kg で、肝血流量の報告値[1]の 6.8%に相当した。Vss は 10.6 L/kg で、総体液量報告値[1]の 15 倍に相当した。マバカムテンを経口投与後、速やかに吸収され、投与後 0.7 時間で Cmax（63.0 ng/mL）に到達し、バイオアベイラビリティは 46.5%であった。経口投与時の T-HALF は 42.7 時間であった。

Figure 3.4-1: **雄性サルにおける単回静脈内（0.25 mg/kg）及び経口投与（0.5 mg/kg）時の血漿中濃度推移［平均値 ± 標準偏差（n=3）］**

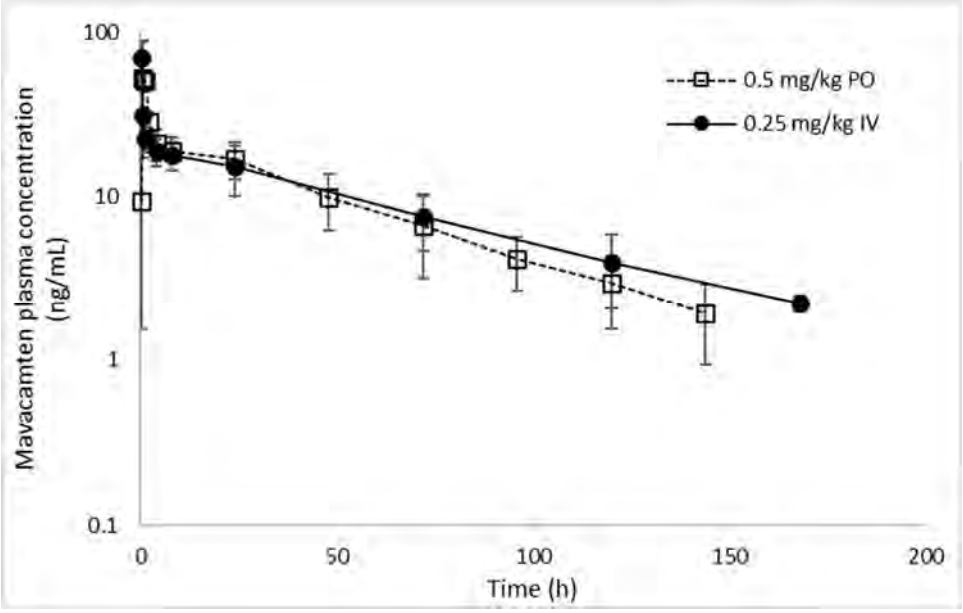


Table 3.4-1: **雄性サルにおける単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ［平均値（%CV）］**

Route	Dose (mg/kg)	T-HALF (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	AUC(last) (ng•h/mL)	AUC(INF) (ng•h/mL)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	F (%)
IV	0.25	44.5 (17.5)	NA	70.6 (24.0)	1380 (33.4)	1520 (32.5)	2.98 (36.0)	10.6 (20.2)	NA
PO	0.5	42.7 (14.3)	0.7 (43.3)	63.0 (37.2)	1290 (31.1)	1410 (32.9)	NA	NA	46.5 (32.9)

NA = not applicable.

3.5 雄性 129SvEv マウスにおける反復投与時の薬物動態

雄性 129SvEv マウスにマバカムテンを反復経口投与したときの血漿及び心臓組織中のマバカムテン濃度を測定し、マウス左心室肥大モデルにおける投与量及び投与頻度設定の参考とした（試験番号 NC-14-0016）。

マバカムテンは、1%ジメチルスルホキシド（DMSO）含有水に 0.0125 mg/mL の濃度で添加し、飲水投与した。マウスの 1 日あたりの摂水量が 5 mL/day と仮定すると、1 日あたりのマバカムテンの投与量は 2.5 mg/kg/day と考えられた。1 測定時点あたり 3 匹のマウスの血液及び心臓組織を 24 時間ごとに 5 日間にわたり採取し、マバカムテン濃度を測定した。なお、血液は心採血により採取し、安楽死後に心臓を採取した。

マバカムテンを 5 日間投与したときの、24 時間ごとの血漿中及び心臓組織中濃度を Table 3.5-1 に要約する。反復投与後の血漿中濃度に対する心臓組織中濃度の比は 2.1～3.1 であり、単回投与後の投与後 0～24 時間を通じて血漿中濃度に対する心臓組織中濃度の比が約 3.5 倍であったこととほぼ同等であった（3.1.2 項）。

Table 3.5-1: **雄性 129SvEv マウスにおける 5 日間反復経口投与後の血漿中及び心臓組織中マバカムテン濃度**

Dose (mg/kg)	Time Point (h)	Heart Tissue Concentration (ng/mL)	Plasma Concentration (ng/mL)	Heart: Plasma Concentration ratio
2.5[a]	24	1730	577	3.0
	48	1650	819	2.1
	72	1420	446	3.1
	96	1980	663	3.0
	120	1460	655	2.2

[a] Dose administered ad libitum in drinking water.

3.6 ラットにおける反復投与時の薬物動態

3.6.1 ラットにおける 6 週間反復経口投与

ラットにおけるマバカムテン反復経口投与後の線形性及び定常状態の曝露量について、6 週間反復経口投与毒性試験の TK 結果を用いて評価した（試験番号 NC-15-0008）。また、マバカムテンが体内で鏡像異性体である MYK-460 に変換される可能性について、血漿試料中のマバカムテン及び MYK-460 濃度を測定して検討した。雌雄 Sprague Dawley ラット（1 群雌雄各 6 匹）にマバカムテンを 0.3、1 及び 3 mg/kg/day の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。

マバカムテンを雄及び雌に反復経口投与したときの Day 1 及び Week 6 のマバカムテン及び MYK-460 の TK パラメータをそれぞれ Table 3.6.1-1 及び Table 3.6.1-2 に示す。

Table 3.6.1-1: 雄性ラットにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

Analyte	Dose level (mg/kg/day)	0.3		1		3	
	Timepoint	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6
Mavacamten	Cmax (ng/mL)	28.0	60.5	108	307	323	726
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	442	1030	1780	4940	5790	12400
MYK-460	Cmax (ng/mL)	-[a]	-[a]	0.385	0.588	1.15	1.29
	Cmax % MYK-460/Mavacamten	NA	NA	0.36	0.19	0.36	0.18
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	-[a]	-[a]	-[b]	2.71	13.2	18.6
	AUC(0-24h) % MYK-460/Mavacamten	NA	NA	NA	0.05	0.23	0.15

NA = not applicable.

[a] Values at this dose level not calculated due to MYK-460 levels below limit of quantification of 0.250 ng/mL.
[b] Not reported as only one mean concentration at the 2 h time point was available.

Table 3.6.1-2: 雌性ラットにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

Analyte	Dose level (mg/kg/day)	0.3		1		3	
	Timepoint	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6
Mavacamten	Cmax (ng/mL)	33.9	62.3	124	283	475	919
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	553	1000	2270	4810	8740	15200
MYK-460	Cmax (ng/mL)	-[a]	-[a]	0.543	0.888	1.58	3.20
	Cmax % MYK-460/Mavacamten	NA	NA	0.44	0.31	0.33	0.35
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	-[a]	-[a]	2.07	9.35	22.6	32.6
	AUC(0-24h) % MYK-460/Mavacamten	NA	NA	0.09	0.19	0.26	0.21

NA = not applicable.

[a] Values at this dose level not calculated due to MYK-460 levels below limit of quantification of 0.250 ng/mL.

Day 1 及び Week 6 のマバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)は、雌雄いずれもおおむね用量に比例して増加した。マバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)のいずれにおいても、雌雄の曝露量の差は 2 倍未満であり、顕著な性差は認められなかった。

反復経口投与後（Week 6）のマバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)はいずれも単回投与時（Day 1）と比べて高く、AUC(0-24h)値は 1.7～2.8 倍高値であったことから、反復投与による蓄積が示唆された。

血漿中 MYK-460 濃度は、低用量（0.3 mg/kg/day）群のいずれの測定時点においても定量下限（0.250 ng/mL）未満であった。マバカムテンに対する MYK-460 の Cmax の比は、Day 1 及び Week 6 でそれぞれ 0.33%～0.44%及び 0.18%～0.35%で、AUC(0-24h)の比はそれぞれ 0.09%～0.26%及び 0.05%～0.21%であった。当該試験で使用したマバカムテン原薬ロットの分析証明書に基づくと、HPLC 分析によるキラル体の純度測定における MYK-460 のピーク面積は [redacted]%であった。これらの結果から、ラットにおいて MYK-460 の蓄積は認められず、マバカムテンが体内で MYK-460 に変換されないことが示唆された。

3.6.2 妊娠ラットにおける反復経口投与

妊娠ラットにおいて、マバカムテンを反復経口投与したときのマバカムテン及び MYK-460 の PK について、胚・胎児発生毒性試験（試験番号 NC-16-0004）の TK 結果を用いて評価した。妊娠 Sprague Dawley ラット（各群 6 匹）にマバカムテンを 0.3、0.75 及び 1.5 mg/kg/day の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、妊娠 6～12 日の 7 日間反復経口投与した。

マバカムテンを妊娠ラットに反復経口投与したときの妊娠 12 日のマバカムテンの TK パラメータを Table 3.6.2-1 に示す。いずれの投与群においても、血漿中にマバカムテンが検出されたが、MYK-460 は定量下限未満であった。マバカムテンの曝露量は、用量比以上に増加した。

Table 3.6.2-1: 妊娠ラットにおける 7 日間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

Dose level (mg/kg/day)	0.3	0.75	1.5
Cmax (ng/mL)	116	356	1080
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1520	5690	16500

3.7 妊娠ウサギにおける反復経口投与時の薬物動態

妊娠ウサギにおいて、マバカムテンを反復経口投与したときのマバカムテン及び MYK-460 の PK について、胚・胎児発生毒性試験（試験番号 NC-16-0051）の TK 結果を用いて評価した。妊娠 New Zealand White ウサギ（各群 3 匹）にマバカムテンを 0.6、1.2 及び 2 mg/kg/day の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、妊娠 6～12 日の 7 日間反復経口投与した。

妊娠 12 日におけるマバカムテン及び MYK-460 の TK パラメータを Table 3.7-1 に示す。

Table 3.7-1: 妊娠ウサギにおける 7 日間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

Analyte	Dose level (mg/kg/day)	0.6	1.2	2
Mavacamten	Cmax (ng/mL)	516	1100	1680
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	7160	16500	29000
MYK-460	Cmax (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	0.406
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	NA	NA	0.426

LLOQ = lower limit of quantitation; NA = not applicable.

いずれの測定時点においても、マバカムテンの血漿中濃度は測定可能であったが、MYK-460 の血漿中濃度は 2 mg/kg/day 群でのみ、低濃度で定量可能であった。マバカムテンの曝露量（Cmax 及び AUC(0-24h)）はいずれも用量に比例して増加した。

3.8 イヌにおける反復投与時の薬物動態

雌雄ビーグル犬におけるマバカムテン反復経口投与後の線形性及び定常状態の曝露量について、6 週間反復経口投与毒性試験（試験番号 NC-15-0009）の TK 結果を用いて評価した。また、マバカムテンが体内で鏡像異性体である MYK-460 に変換される可能性について、血漿試料中のマバカムテン及び MYK-460 濃度を測定して検討した。イヌ（1 群雌雄各 4～6 匹）にマバカムテンを 0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg/day の用量で、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。

マバカムテンを雄及び雌に反復経口投与したときの Day 1 及び Week 6 のマバカムテン及び MYK-460 の TK パラメータをそれぞれ Table 3.8-1 及び Table 3.8-2 に示す。

Table 3.8-1: 雄性イヌにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

Analyte	Dose level (mg/kg/day)	0.1		0.3		1		3	
	Timepoint	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6
Mavacamten	Cmax (ng/mL)	33.4	88.9	60.1	303	150	-[a]	296	-[b]
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	220	1690	621	5900	1720	-[a]	3400	-[b]
MYK-460	Cmax (ng/mL)	0.451	0.504	0.959	1.49	2.59	-[a]	4.54	-[b]
	Cmax % MYK-460/Mavacamten	1.4	0.57	1.6	0.49	1.7	-[a]	1.5	-[b]
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1.71	2.11	8.89	13.0	23.9	-[a]	45.9	-[b]
	AUC(0-24h) % MYK-460/Mavacamten	0.78	0.12	1.4	0.22	1.4	-[a]	1.4	-[b]

[a] Animals received treatment for 25 or 26 days, then treatment was suspended.
[b] Animal received treatment for 6 or 7 days, then treatment was suspended.

Table 3.8-2: **雌性イヌにおける 6 週間反復経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ**

Analyte	Dose level (mg/kg/day)	0.1		0.3		1		3	
	Timepoint	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6
Mavacamten	Cmax (ng/mL)	33.6	110	56.1	220	178	-[a]	370	-[b]
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	239	1480	553	3700	1630	-[a]	4850	-[b]
MYK-460	Cmax (ng/mL)	0.426	0.450	0.840	1.18	2.14	-[a]	5.80	-[b]
	Cmax % MYK-460/Mavacamten	1.3	0.41	1.5	0.54	1.2	-[a]	1.6	-[b]
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1.23	1.52	5.24	8.95	18.2	-[a]	59.0	-[b]
	AUC(0-24h) % MYK-460/Mavacamten	0.51	0.10	0.95	0.24	1.1	-[a]	1.2	-[b]

[a] Animals received treatment for 25 or 26 days, then treatment was suspended.
[b] Animal received treatment for 6 or 7 days, then treatment was suspended.

0.1～3 mg/kg/day において、Day 1 におけるマバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)は用量比以下の増加を示し、Week 6 においては 0.1 及び 0.3 mg/kg/day で用量に比例して増加した。マバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)のいずれにおいても、雌雄の曝露量の差は 2 倍未満であり、顕著な性差は認められなかった。

反復経口投与後（Week 6）、マバカムテンの Cmax 及び AUC(0-24h)はいずれも単回投与時（Day 1）と比べて高く、AUC(0-24h)値は 6.3～9.4 倍高値であったことから、反復投与による蓄積が示唆された。しかしながら、イヌの T-HALF が長いことから、反復投与による曝露量の差は定常状態に到達するために必要な時間を反映していると考えられる。

マバカムテンに対する MYK-460 の Cmax の比は、Day 1 及び Week 6 でそれぞれ 1.2%～1.7%及び 0.41%～0.57%で、AUC(0-24h)の比はそれぞれ 0.51%～1.4%及び 0.10%～0.24%であった。当該試験で使用したマバカムテン原薬ロットの分析証明書に基づくと、HPLC 分析によるキラル体の純度測定における MYK-460 のピーク面積は [redacted]%であった。これらの結果から、イヌにおいて MYK-460 の蓄積は認められず、マバカムテンが体内で MYK-460 に変換されないことが示唆された。

3.9 膜透過性

マバカムテンの細胞膜透過性及び排出について、10 μM の濃度で Caco-2 細胞を用いて評価した（試験番号 NC-17-0022）。その結果、マバカムテンは高い膜透過性及び低い排出比を示したことから、P-gp による排出は限定的であることが示された。

次に、マバカムテンが 1～200 μM の濃度のときの膜透過性及び排出を、Caco-2 細胞を用いて評価した（試験番号 NC-19-0016）。頂端膜側から基底膜側［apical to basolateral（A to B）］への薬物の見

かけの透過係数（P_{app}）は 99.4×10^{-7}～156×10^{-7} cm/sec、基底膜側から頂端膜側［basolateral to apical（B to A）］への P_{app} は 130×10^{-7}～175×10^{-7} cm/sec であり、A to B に対する B to A の P_{app} の比（排出比）は 0.977～1.55 であった。これらの結果から、マバカムテンは 1～200 μM の濃度で、高い膜透過性及び低い P-gp 基質性を示した。

4 分布

4.1 ラットにおける組織分布

4.1.1 [^{14}C]マバカムテンを用いた定量的全身オートラジオグラフィー

組織分布について、雄性有色ラット（Long Evans ラット 9 匹）及び雄性白色ラット（Sprague Dawley ラット 5 匹）に[^{14}C]マバカムテンを 1 mg/kg（187 μCi/kg）の用量で単回経口投与し、QWBA 法で評価した（試験番号 NC-19-0007）。媒体として DMA：PEG400：30% HPβCD（5:25:70）混合液を用いた。有色ラットでは投与後 0.5、1、4、8、24、72、168、336 及び 720 時間、白色ラットでは投与後 1、4、24、48 及び 168 時間の各測定時点につき 1 匹測定した。

[^{14}C]マバカムテンは単回経口投与後、有色ラット及び白色ラットのいずれにおいても投与放射能は速やかに吸収され、広範な組織に分布した。有色ラットの大部分の組織において、投与後 0.5 時間に放射能濃度のピークが認められ、心筋、横隔膜、肝臓、唾液腺、骨格筋及び食道で高値を示した。次いで、動脈壁、胃粘膜、小腸、腎臓、分泌腺及び皮質骨に近接する一部の骨格筋でも[^{14}C]マバカムテン由来の放射能が認められた。血液脳関門により保護されている中枢神経系組織（小脳、大脳、脳髄室及び脊髄）における放射能濃度は低く、脊髄以外の組織で投与後 720 時間に定量下限未満となった。白色ラットにおける分布傾向は有色ラットに類似していた。また、有色ラットにおいて、[^{14}C]マバカムテン由来の放射能は眼球のメラニン含有組織中でも低濃度に認められた。白色ラットにおけるブドウ膜中濃度のピークが有色ラットと比較して約 1/2 であったことから、マバカムテンはメラニンに対する親和性を示さないか、ほとんど示さないことが示唆された。

4.1.2 横紋筋中のマバカムテン濃度の測定

マバカムテンを 0.5%メチルセルロース水溶液に調製し、ラットに単回又は反復経口投与して組織分布を評価した（試験番号 NC-14-0023）。単回投与群（3 例）は 1 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 24 時間に剖検した。剖検時に、血液（血漿中濃度測定用に採取）、脳、食道、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、ヒラメ筋及び長趾伸筋を採取した。反復投与群（3 例）は 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回、7 日間にわたり反復経口投与し、最終投与後 24 時間に剖検した。剖検時に、単回投与群と同様に血液及び組織を採取した。

いずれの組織においても、血漿中濃度に対する組織中濃度の比は Day 1 及び Day 7 でほぼ同程度であった。血漿中濃度に対する脳、脾臓及び肺組織中濃度の比は 2 未満であったことから、これら組織への分布は限定的又はほとんどないことが示された。排泄組織である肝臓及び腎臓における濃度比は約 3 であった。横紋筋である心筋及び長趾伸筋における濃度比は約 9～12 であったが、ヒラメ

筋における濃度比は約 20 と高かった。食道における濃度比は約 3 で、肝臓及び腎臓と同程度であり、これは平滑筋及び横紋筋から構成される特性と一致すると考えられた。

4.2 イヌにおける組織分布

ビーグル犬におけるマバカムテンの筋組織への分布について、単回投与毒性試験（試験番号 NC-19-0029）において評価した。雌雄各 1 匹に 7 mg/kg 並びに 1 群雌各 1 匹に 1.5 及び 4.5 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 7 日間の観察の後に安楽死させ、心臓（左室）及び骨格筋（長趾屈筋及び長趾伸筋）を採取した。

その結果、各横紋筋における血漿中濃度に対する組織中濃度の比は概して同程度であり、約 10～30 であった。

4.3 血漿蛋白結合

[^{14}C]マバカムテンの血漿蛋白結合について、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿を用いて、0.2、1.0 及び 10 μM の濃度で評価した（試験番号 NC-17-0016）。

いずれの動物種においても、濃度依存的な影響は認められなかった。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿蛋白結合率はそれぞれ 83.9%、89.0%、91.1%、95.1%及び 93.1%であった。

4.4 血球移行性

In vitro で、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおけるマバカムテンの血球移行性について評価するために、各動物種における血漿中濃度に対する血中濃度の比を算出した（試験番号 NC-17-0016）。その結果、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける血漿中濃度に対する血中濃度の比はそれぞれ 0.72、0.82，0.78、0.82 及び 0.79 であった。マバカムテンは主に血漿中に分布すると考えられることから、マバカムテンの PK 評価に血漿試料を用いることの適切性が確認された。

4.5 胎盤通過性

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験（試験番号 NC-16-0051）の評価の一環として、妊娠 New Zealand White ウサギにマバカムテンを 0.6、1.2 及び 2 mg/kg/day の用量で妊娠 6～12 日の 7 日間、1 日 1 回反復経口投与し、妊娠 12 日の投与後 24 時間に血漿、胚、胚体外組織（胚膜、胎盤及び羊水）を採取し、マバカムテン濃度を測定した。その結果、いずれの投与群においても血漿、胚、胚体外組織中でマバカムテンが検出され、血漿中濃度に対する胚中濃度の比は 0.09～0.15 であったことから、マバカムテンが血液－胎盤関門を通過して、胎児へ移行することが示唆された。

5 代謝

5.1 In vitro 代謝安定性

マバカムテンの代謝安定性及び固有クリアランスについて、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム並びにラット及びヒト肝細胞を用いて評価した（試験番号 NC-17-0019 及び

NC-19-0021）。固有クリアランス値及び well-stirred model の計算式を用いて、in vivo における肝クリアランス値を推定した。

その結果、肝ミクロソームにおける固有クリアランスより推定した肝クリアランスは 0.449～3.78 mL/min/kg であり、各動物種における肝血流量の報告値 [1] の 2%～7%に相当した。ラット肝細胞における T-HALF は 572 分で、肝クリアランス推定値は 5.33 mL/min/kg であった。ヒト肝細胞においても同様の代謝安定性が認められ、T-HALF は 700 分超であった。これらの結果から、マバカムテンはいずれの動物種においても高い代謝安定性が示された。

5.2 各動物種における in vitro 代謝の比較

In vitro において、各動物種の肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて、[^{14}C]マバカムテンの代謝物プロファイリングを行った（試験番号 NC-17-0017）。生成された[^{14}C]マバカムテンの主要な代謝物の構造について、放射能検出器付き HPLC 及び LC-MS/MS を用いて解析した。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞において、13 種類の代謝物の生成が低濃度に認められ、そのうちの 8 種類は放射能検出器付き HPLC で、その他 5 種類は LC-MS/MS でのみ検出された。

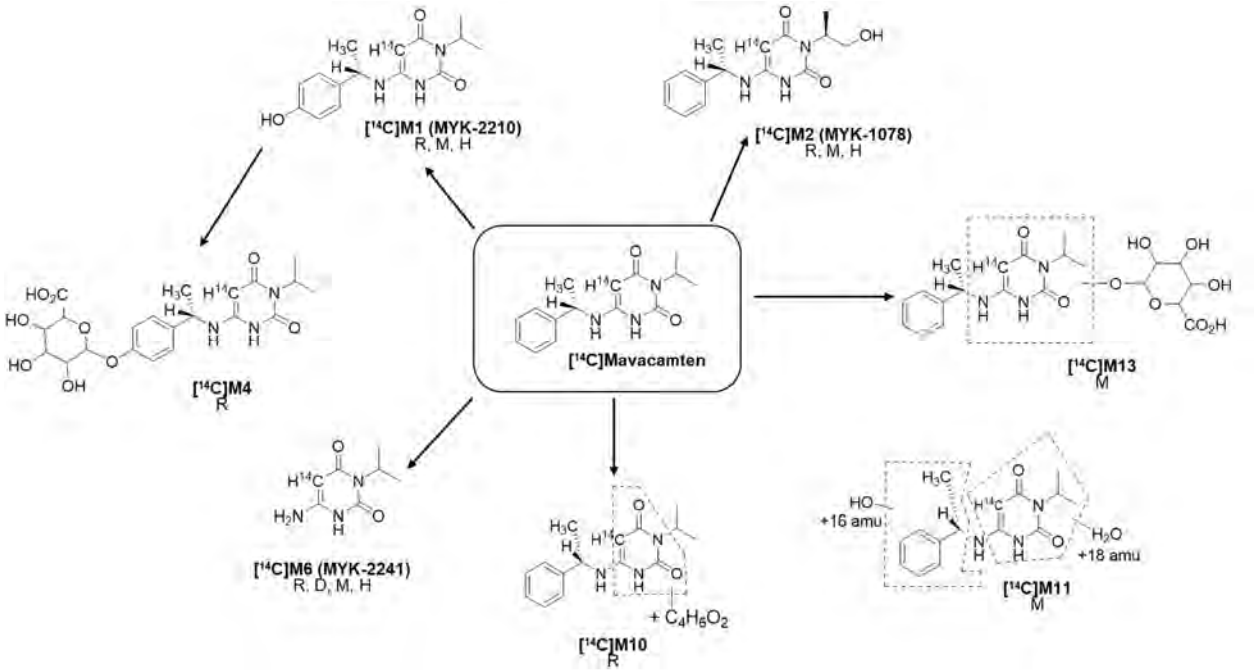
各動物種の肝ミクロソームにおいて、放射能検出器付き HPLC で MYK-2210、MYK-1078、MYK-2241 及び M12 が共通して検出された。MYK-2210 及び MYK-1078 はそれぞれ芳香族部分及びイソプロピル基の水酸化、MYK-2241 はフェニルエチル基の N-脱アルキル化により生成された。M12 はマバカムテンの二酸化代謝物と同定された。また、M12 は肝ミクロソームでのみ検出され、肝細胞では検出されなかった。

いずれの動物種においてもマバカムテンの代謝物の生成率は低く、特にイヌの肝細胞では放射能検出器付き HPLC で MYK-2241（0.38%）のみが検出された。一方で、ラットの肝細胞で最も代謝物の生成率が高く、水酸化代謝物である MYK-2210 及びそのグルクロン酸抱合体である M4 がそれぞれ 2.84%及び 9.01%検出され、ラットにおける主要な代謝経路と考えられた。肝ミクロソームで認められず、肝細胞において新たに M4（MYK-2210 のグルクロン酸抱合体）、M10（ウラシル基に $C_4H_6O_2$ が結合し生成）、M11（フェニルエチル基の水酸化及びアミノウラシル基の加水分解により生成）及び M13（マバカムテンのアミノウラシル基の水酸化体のグルクロン酸抱合体）が検出された。その他の代謝物として、肝ミクロソーム又は肝細胞において水酸化代謝物である MYK-1096（M5）、M7、MYK-1065（M8）及び MYK-2364（M9）並びに不飽和イソプロピル誘導体である M3 が検出されたが、いずれも LC-MS/MS のみで検出可能であった。

ヒト肝ミクロソーム又は肝細胞で検出された MYK-2210、MYK-1078、M3、MYK-2241、M7、MYK-1065 及び MYK-2364 は、いずれかの非臨床動物種でも検出され、ヒトに特有の代謝物は検出されなかった。

肝細胞における[^{14}C]マバカムテンの推定代謝経路の図を Figure 5.2-1 に示す。

Figure 5.2-1: **肝細胞における[^{14}C]マバカムテンの推定代謝経路**



D = dog; H = human; M = monkey; R = rat

5.3 CYP 分子種の同定

ヒト肝ミクロソーム、ヒト組換えCYP及びCYP阻害薬を用いてマバカムテンの代謝に寄与するCYP分子種を同定した（試験番号NC-17-0018）。

マバカムテン（1 μM）と各種ヒト組換え CYP（それぞれ 150 pmol/mL）を β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下又は非存在下で 1 時間インキュベーションした。その結果、マバカムテンは CYP2C19、CYP3A4 及び CYP3A5 により代謝され、マバカムテンはそれぞれ71.4%、43.6%及び 57.2%減少した。その他、組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及びCYP2J2 による代謝（8.8%～19.4%のマバカムテンの減少）も認められた。

次にヒト肝細胞で検出された MYK-2210、MYK-1078 及び MYK-2241 の生成に寄与する CYP について、NADPH 添加ヒト肝ミクロソームにおいてマバカムテン（10 μM）と各種 CYP 阻害薬を 1 時間インキュベーションして検討した。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 並びに CYP3A4/5 阻害薬として、それぞれ α-ナフトフラボン、チオテパ、モンテルカスト、スルファフェナゾール、(+)N-3-ベンジルニルバノール、キニジン、トラニルシプロミン並びにケトコナゾール及びアザムリンを用いた。その結果、MYK-2210 及び MYK-1078 の生成はそれぞれスルファフェナゾール（45%阻害）及び(+)N-3-ベンジルニルバノール（49.2%阻害）に抑制された。これらの結果から、マバカムテンの代謝に CYP2C19、CYP3A4/5 及び CYP2C9 が寄与することが示された。なお、本評価系で MYK-2241 は検出されなかった。

さらにマバカムテンの代謝に関与する各種 CYP の寄与率について、当該酵素で代謝される割合（fm：fraction metabolized）を推定した。NADPH 存在下で、マバカムテン（1 μM）をヒト組換え CYP2C19、CYP3A4、CYP2C9 及び CYP2J2 とインキュベーションし、6 種類の代謝物［MYK-2210、MYK-1078、MYK-1096、MYK-2241、MYK-1065 及び MYK-2364］の生成量を、ヒト肝ミクロソームにおける各 CYP 分子種の発現量（abundance：pmol/mg microsomal protein）で補正した。各 CYP の fm 値は、各 CYP を介して生成された 6 種類の代謝物の生成割合の補正値を、評価した 4 種類の CYP により生成した 6 種類の代謝物の生成割合の和で除し、推定した。その結果、CYP2C19、CYP3A4 及び CYP2C9 の fm はそれぞれ 74.3%、18.0%及び 7.6%であった。なお、CYP2J2 の fm は 0.2%であったことから、CYP2J2 はマバカムテンの代謝にほとんど寄与しないと考えられた。

5.4 ラットの血漿中、尿中及び胆汁中の代謝物プロファイル

マバカムテン及びその代謝物のマスバランス、吸収、代謝及び排泄について、Sprague Dawley ラットに[^{14}C]マバカムテンを 1 mg/kg（187 μCi/kg）の用量で単回経口又は静脈内投与し、プールした血漿、尿及び胆汁試料を用いて未変化体及び代謝物を測定した（試験番号 NC-20-0025）。その結果を Table 5.4-1 に要約する。ラット血漿において、最も多い放射性化合物は未変化体であった。また、血漿において、LC-MS/MS 測定で認められた主な代謝物は MYK-2210 及び MYK-1078 であり、これらと MYK-2241 がラット肝ミクロソーム及び肝細胞で認められた酸化代謝物であった。血漿中に認められた代謝物の AUC はいずれもマバカムテンの 5%以下であった。

尿中で検出された主な代謝物は MYK-2210、MYK-1078 及び MYK-2210 のグルクロン酸抱合体である M4 であった。静脈内投与後の胆汁中で検出された主な代謝物は MYK-2210、MYK-1078、M4 及び MYK-1065 であった。放射能検出器付き HPLC 測定において、プールされた尿及び胆汁中の未変化体の量は比較的少なかった。単回経口又は静脈内投与後の尿中及び胆汁中のマバカムテンは投与量の 2%未満であったことから、マバカムテンの主な消失経路は酸化的代謝であることが示唆された。

Table 5.4-1: ラットにおける[^{14}C]マバカムテン単回経口又は静脈内投与後の未変化体及び代謝物プロファイル

Route	Matrix (Sampling time)	% of Total Radioactivity					
		Parent	MYK-2210	MYK-1078	M4	MYK-1065	Total
Oral	Plasma (0-72h)	45.3[b]	ND	ND	ND	ND	-
	Urine (0-120h)	7.07	44.2	14.1	0.76	ND	66.1
IV bolus	Plasma[a] (0-72h)	66.9[b]	1.98[c]	ND	ND	ND	100
	Urine (0-96h)	6.17	19.2	8.14	24.1	2.00	59.6
	Bile (0-96h)	3.90	10.3	3.90	56.3	11.4	85.8

M4 = O-glucuronide of MYK-2210; ND = not detected.

[a] Only MYK-2210 was detected by LC-radiometric analysis. MYK-2210 and MYK-1078 along with other very low level components were detected by LC-MS/MS in rat plasma.
[b] MYK-461 AUC(0-t) by LC-MS/MS / [^{14}C]Mavacamten (total radioactivity) AUC(0-t) by LC-radiometric detection × 100.
[c] MYK-2210 AUC(0-t) by LC-MS/MS / [^{14}C]Mavacamten (total radioactivity) AUC(0-t) by LC-radiometric detection × 100.

5.5 ラットにおける初回通過代謝の評価

マバカムテンの初回通過代謝を含む肝抽出率について、雄性 Sprague Dawley ラットにマバカムテンを 2 mg/kg の用量で経口投与して評価した（試験番号 NC-14-0021）。ラット（各群 3 匹）の門脈及び大腿静脈にカニューレを挿入し、投与後 24 時間にわたりカニューレより採血した。

消化管上皮細胞通過中における消化管内代謝を免れた薬物の割合（Fg）及び肝臓における初回通過代謝を免れた割合（Fh）はそれぞれ 0.902 及び 0.857 であった。これらの結果から、雄性ラットにおいてマバカムテンの吸収は良好であり、初回通過による影響が軽微であることが示された。これは Caco-2 細胞を用いた膜透過性試験（3.9 項）及び肝代謝安定性試験（5.1 項）の結果に基づく in vitro 予測とも一致した。

6 排泄

Sprague Dawley ラットにおける[^{14}C]マバカムテン由来の放射能の排泄について、無処置又は BDC ラットに[^{14}C]マバカムテンを 1 mg/kg（187 µCi/kg）の用量で単回経口又は静脈内投与して評価した（試験番号 NC-19-0007）。経口投与群は、投与後 120 時間まで尿、糞便、呼気及びケージ洗浄液を採取し、放射能量を測定した。静脈内投与群は、投与後 96 時間まで尿、糞便、胆汁及びケージ洗浄液を採取し、放射能量を測定した。いずれの投与群の動物も安楽死させ、屍体重量を測定した後、放射能量を測定した。

雄性無処置ラットに[^{14}C]マバカムテンを単回経口投与した結果、回収された放射能総量の平均値は 95.8%であり、投与後 48 時間までに投与量の約 77%が排泄された。糞便中から投与量の 58.0%が回収されたことから、糞便中排泄がマバカムテンの主要な消失経路であることが示された。尿中から投与量の 22.6%が回収された。投与後 120 時間に、屍体中から投与量の 7.63%が回収された。

雄性 BDC ラットに[^{14}C]マバカムテンを単回静脈内投与した結果、回収された放射能総量の平均値は 94.0%であり、投与後 48 時間までに投与量の約 70%が排泄された。胆汁中から投与量の 41.1%が回収されたことから、胆汁中排泄がマバカムテンの主要な消失経路であることが示された。尿中及び糞便中から投与量のそれぞれ 31.0%及び 7.59%が回収された。投与後 96 時間に、屍体中から投与量の 7.91%が回収された。

7 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 薬物代謝酵素の阻害及び誘導

7.1.1 In vitro における CYP 阻害能

マバカムテンの CYP 阻害による DDI の可能性について、ヒト肝ミクロソームを用いて評価した（試験番号 NC-19-0019）。その結果、マバカムテンは 200 µM の濃度で、CYP2C9 及び CYP2C19 を阻害し、IC50 値はそれぞれ 82.2 及び 89.7 µM であった。これら 2 つの CYP 分子種について、詳細に評価した結果、CYP2C9 及び CYP2C19 の見かけの阻害定数（Ki）はそれぞれ 59.5 及び 46.2 µM であった。

さらに、プローブ基質としてミダゾラムを用いた結果、CYP3A4/5 の活性化が認められ、テストステロンを用いたとき CYP3A4/5 の阻害（IC50：175 μM）が示唆された。マバカムテンは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2D6 を阻害しなかった。マバカムテンは CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度に阻害したものの、臨床における治療濃度より高い濃度であったことから、これら CYP 阻害を介した DDI が臨床で認められる可能性は低いと考えられた。

7.1.2 In vitro における時間依存的阻害能

マバカムテンの時間依存的阻害能について、2 試験を実施して評価した。最初の試験（試験番号 NC-19-0019）では、NADPH 存在下又は非存在下のヒト肝ミクロソームにおいて、マバカムテン（3～200 μM）を 37°C、30 分間プレインキュベーションしたときの各 IC50 値を算出し、さらにそれらの IC50 値の比を IC50 シフト値として算出した。IC50 シフト値が 2 倍を超えたとき時間依存的阻害を示唆しているとみなし、より詳細な時間依存的阻害能を評価する追加試験を実施した（試験番号 NC-19-0018）。追加試験では、K_I 及び k_{inact} を推定した。

最初の試験において、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 の IC50 シフト値は 2 倍未満又は阻害反応が認められなかった。CYP2C19 及び CYP2D6 の IC50 シフト値はそれぞれ 2.35 倍及び 2.53 倍超であったことから、これら CYP を時間依存的に阻害する可能性が示唆された。

より詳細に CYP2C19 及び CYP2D6 の時間依存的阻害能（又は不活化能）について評価するために、K_I 値及び k_{inact} 値を推定した。その結果、CYP2C19 の K_I 及び k_{inact} はそれぞれ 57.2 μM 及び 0.011 min^{-1}、CYP2D6 の K_I 及び k_{inact} はそれぞれ 260 μM 及び 0.031 min^{-1} であったことから、マバカムテンは CYP2C19 及び CYP2D6 の弱い時間依存的阻害薬であることが示され、これら CYP の阻害を介した DDI が起きる可能性が低いことが示唆された。

7.1.3 In vitro における CYP 誘導能

マバカムテンの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 誘導能について、3～4 例のドナーより採取したヒト初代培養凍結肝細胞を用いて評価した（試験番号 NC-19-0006）。コラーゲン I でコーティング加工された 96 ウェルプレートに接着した肝細胞にマバカムテンを合計 3 日間曝露し、24 時間ごとに培養液を交換した。CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 誘導能は、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）により測定した各 CYP 分子種の mRNA 発現量に基づき評価した。In situ 触媒反応の誘導は、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に特異的なプローブ基質を用いて評価した。その結果、マバカムテンは 0.05～15 μM の濃度において CYP1A2 の mRNA 発現及び酵素活性を増加させなかったが、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現及び酵素活性の濃度依存的な増加を示し、溶媒対照の 2 倍以上かつ陽性対照の 20%超であった。

マバカムテンが CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 を誘導する可能性について、3 種類のヒト肝細胞を用いて各 CYP 分子種の mRNA 発現量に基づき、追加の評価を行った（試験番号 NC-19-0012）。その結果、マバカムテンは 0.015～20 μM の濃度範囲で、CYP2C8、CYP2C9、

CYP2C19 及び CYP3A4 を誘導した。ただし、CYP2C19 については、用いた 3 種の肝細胞のうち、1 種類でのみ評価可能であった。また、マバカムテンは 20 μM の濃度まで細胞傷害作用を示さなかった。

In vivo においてマバカムテンがこれら CYP 分子種を誘導する可能性について、厚生労働省の DDI ガイドライン「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（薬生薬審発 0723 第 6 号、2018 年）、FDA の DDI ガイダンス「In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions Guidance for Industry」（2020 年）、欧州医薬品庁（EMA）の DDI ガイドライン「Guideline on the investigation of drug interactions」（2012 年）及び医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン「薬物相互作用試験（案）」（ICH M12、2022 年）に記載されている basic kinetic model に基づき、R_3 値を算出して評価した。CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 の最大効果の 50%の効果をもたらす濃度（EC50）及び最大誘導作用（Emax）より算出した R_3 値を Table 7.1.3-1 に示す。評価した CYP の R_3 値はいずれもガイドラインのカットオフ値である 0.8 未満であったことから、in vivo においてマバカムテンがこれら CYP を誘導する可能性が示唆された。

Table 7.1.3-1: CYP 誘導を介した薬物相互作用の予測

CYP Enzyme	EC50 (μM)	Emax	R_3[a]
CYP2B6	5.13	6.77	0.297
CYP2C8	2.88	3.25	0.386
CYP2C9	4.47	2.14	0.551
CYP2C19	3.55	2.25	0.504
CYP3A4	3.94	7.70	0.240

[a] $R_3 = 1 / [1 + d \times ((Emax \times 10 \times Imax,u) / (EC50 + 10 \times Imax,u))]$
Imax,u: maximal unbound plasma concentration of mavacamten at steady-state estimated based on the equation, Imax,u = Imax × fup, where Imax is the maximal plasma concentration (3.99 μM) and fup is unbound fraction of mavacamten in human plasma (0.069).
d: scaling factor, assumed to be 1

CYP3A4 の誘導については、臨床 DDI 試験（試験番号 MYK-461-010 及び MYK-461-016）で詳細に検討した。その結果、マバカムテンは治療用量において臨床的に意味のある CYP3A4 の誘導を引き起こさなかった（モジュール 2.7.2）。

In vivo においてマバカムテンが CYP2B6 を誘導する可能性について、PBPK モデルを用いたシミュレーションを行った結果、マバカムテンが CYP2B6 の誘導を介した DDI を引き起こす可能性が低いことが示された（モジュール 2.7.2）。

前述の in vitro 誘導試験（試験番号 NC-19-0012）において、マバカムテンの CYP2C 分子種に対する誘導作用は、CYP3A4 に対する誘導作用よりも低かった（Emax：CYP2C で 1.96～3.52 倍、CYP3A4

で 6.81～8.93 倍）。臨床 DDI 試験（試験番号 MYK-461-010 及び MYK-461-016）において、臨床的に意味のある CYP3A4 誘導が認められなかったことに加えて、CYP3A4 が小腸及び肝臓に最も多く存在する薬物代謝酵素であることを考慮すると、マバカムテンの CYP2C に対する影響は小さいと予測される。以上の結果から、マバカムテンが CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対して臨床上意味のある誘導作用を示す可能性は低いと考えられる。

7.2 トランスポーターを介した薬物相互作用に関する in vitro 評価

マバカムテンの肝取込みについて、ヒト肝細胞を用いて主要な肝取込みトランスポーターに対する基質性を評価した（試験番号 NC-19-0014）。ヒト凍結肝細胞において、マバカムテンを各種トランスポーター阻害薬［シクロスポリン A（OATP 及び NTCP 阻害薬）、リファンピシン（OATP 及び NTCP 阻害薬）並びにキニジン（OCT 阻害薬）］存在下又は非存在下でインキュベーションした。その結果、OATP、OCT 及び NTCP 阻害薬の存在下及び非存在下のいずれにおいてもマバカムテンの取込み能に対して明確な影響は認められなかったことから、マバカムテンは肝取込みトランスポーターである OATP、OCT 及び NTCP の基質でないことが示された。

さらに、ヒト腎トランスポーターを単一発現したヒト胎児腎（HEK）細胞を用いて、主要な腎トランスポーターである OAT1、OAT3 及び OCT2 に対する基質性を評価した（試験番号 NCPK799）。マバカムテンを 0.4 及び 4 μM の濃度で、各種トランスポーター阻害薬［プロベネシド（OAT1 及び OAT3 阻害薬）並びにピリメタミン（OCT2 阻害薬）］存在下又は非存在下で 2 分間又は 5 分間インキュベーションした。その結果、ヒトトランスポーター発現 HEK 細胞におけるマバカムテンの取込みは、HEK-Mock 細胞における取込みとほぼ同等であった。また、いずれのトランスポーター阻害薬においても、マバカムテンの取込み能に対して明確な影響は認められなかったことから、マバカムテンは腎トランスポーターである OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質でないことが示された。

追加で実施した試験において、排出トランスポーターである P-gp、BCRP、BSEP、MATE1 及び MATE2-K 並びに取込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、OAT1 及び OAT3 に対するマバカムテンの阻害能を評価した（試験番号 NC-19-0017 及び NC-19-0015）。その結果、マバカムテンは P-gp を阻害せず、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の弱い阻害薬であることが示された（IC50：22.6～484 μM）。

In vivo においてマバカムテンがこれらトランスポーターを阻害する可能性について、in vitro 試験の結果及び各局の DDI ガイドラインに基づき評価した。

消化管内における DDI の可能性について、BCRP の Igut/IC50 を算出して評価した。Igut（消化管内の予測最高濃度）は 219.6 μM と推定された（1 回に投与される最大投与量 15 mg を 250 mL で除して算出）。BCRP の Igut/IC50 は 1.69 であり、ガイドラインのカットオフ値である 10 未満であったことから、in vivo において BCRP 阻害を介した DDI が起こる可能性は低いことが示された。

肝取込みトランスポーターであるOATP1B1、OATP1B3及びOCT1を介したDDIの可能性について、R 値を算出して評価した。血漿中非結合形分率（fup）を 0.069 とし、肝門脈における血漿中推定最大濃度（Iin,max）はマバカムテンを15 mgの用量で投与したときの定常状態における Cmax（Imax：3.99 μM）、吸収速度定数（ka：0.30 h^{-1}）、消化管バイオアベイラビリティ［Fg×消化管からの吸収率（Fa）：約1］、血液／血漿比（RB：0.79）及び肝血流速度（Q_H：97 L/h）を用いて推定した。その結果、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の R 値はそれぞれ 1.001、1.001 及び 1.002 であり、いずれもガイドラインのカットオフ値［OATP：1.04（EMA ガイドライン）、OCT：1.1］未満であったことから、in vivo において肝取込みトランスポーター阻害を介した DDI が起こる可能性が低いことが示された。

腎トランスポーターである OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介した DDI の可能性について、Imax,u/IC50を算出して評価した（Imax,u：定常状態における非結合形Cmax）。その結果、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の Imax,u/IC50 はそれぞれ 0.0012、0.0039、0.0030、0.0122 及び 0.0038 であり、いずれも EMA ガイドラインのカットオフ値である 0.02 未満であったことから、in vivo において腎トランスポーター阻害を介した DDI が起こる可能性は低いことが示された。

これらトランスポーターを介した DDI の予測について、Table 7.2-1 に要約する。これらの試験結果から、マバカムテンは in vivo において消化管、肝臓及び腎臓トランスポーターを阻害する可能性は低く、またこれらトランスポーター阻害を介した DDI を引き起こす可能性が低いことが示唆された。

Table 7.2-1: トランスポーター阻害を介した薬物相互作用の予測

Transporter	IC50 (μM)	Igut/IC50[a]	R[b]	Imax,u/IC50[c]
P-gp	No inhibition	NA	NA	NA
BCRP	130	1.69	NA	NA
OATP1B1	425	NA	1.001	NA
OATP1B3	484	NA	1.001	NA
OCT1	171	NA	1.002	NA
OCT2	91.3	NA	NA	0.0030
MATE1	22.6	NA	NA	0.0122
MATE2-K	72.3	NA	NA	0.0038
OAT1	227	NA	NA	0.0012
OAT3	70.2	NA	NA	0.0039

NA = not applicable.

[a] Igut: intestinal luminal concentration estimated based on the equation Igut = dose of inhibitor / 250 mL (219.6 μM for mavacamten dose of 15 mg [54.9 μmol])

[b] R = 1 + ((fup × Iin,max) / IC50)
fup: unbound fraction of mavacamten in human plasma (0.069)
Iin,max: estimated maximum plasma inhibitor concentration at the inlet to the liver based on the equation, Iin,max = Imax + (Fa × Fg × ka × Dose) / Q_H / RB; where Imax is the maximal plasma concentration at steady-state (3.99 μM); Fa is the fraction absorbed and Fg is the intestinal availability (both Fa and Fg are 1); ka is the absorption rate constant (0.30 h^{-1}); Q_H is the hepatic blood flow rate (97 L/h); RB is the blood-to-plasma concentration ratio (0.79)

[c] Imax,u: maximal unbound plasma concentration of mavacamten at steady-state estimated based on the equation, Imax,u = Imax × fup

8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

9 考察及び結論

マバカムテンの PK について、種々の動物種及び in vitro 試験により評価した。

マバカムテンを単回静脈内投与後、いずれの動物種においても、急速な分布相及び緩やかな消失相からなる二相性の血漿中濃度推移を示した。マウス、ラット、イヌ及びサルにおける CL は、それぞれの動物種の肝血流量の報告値[1]の 2%未満～10.5%に相当した。また、非臨床動物種における Vss は 3.81～10.6 L/kg と各動物種の総体液量の報告値[1]より大きかった。T-HALF はマウス、ラット及びサルで 7.02～44.5 時間、イヌで 130 時間であった。マバカムテンを溶液又は懸濁液として経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 46%超であった。ラットにおいて、マバカムテンを 0.3～3 mg/kg/day の用量で反復経口投与したときの Day 1 及び Week 6 の Cmax 及び AUC(0-24h)はいずれも概して用量に比例して増加した。一方、イヌにおいて 0.1～0.3 mg/kg/day の用量で反復経口投与した結果、Cmax 及び AUC(0-24h)は Day 1 に 0.1～3 mg/kg/day の用量範囲で用量比以下の増加を示し、

Week 6 に 0.1 及び 0.3 mg/kg/day で用量に比例して増加した。Caco-2 細胞において、マバカムテンは 1～200 μM の濃度で高い膜透過性及び低い P-gp 基質性を示した。

[^{14}C]マバカムテンの血漿蛋白結合率は、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでそれぞれ 83.9%、89.0%、91.1%、95.1%及び 93.1%であった。ラットにおける QWBA 試験では、心筋、横隔膜、肝臓、唾液腺、骨格筋及び食道で高い放射能濃度が認められた。

In vitro におけるマバカムテンの代謝について、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット及びヒトの肝細胞を用いて評価した。いずれの動物種の肝ミクロソーム及び肝細胞においても、マバカムテンは緩やかに代謝された。肝ミクロソームにおける固有クリアランス及び well-stirred model の計算式より推定した肝クリアランスは、各動物種における肝血流量の報告値[1]の 2%～7%に相当した。ヒト肝細胞において同様の代謝安定性が認められた。

マバカムテンの代謝に寄与する CYP 分子種として CYP2C19、CYP3A4 及び CYP2C9 が同定され、寄与率はそれぞれ 74.3%、18.0%及び 7.6%であった。

ラットに[^{14}C]マバカムテンを単回経口又は静脈内投与した結果、血漿において最も多い放射性化合物は未変化体であり、代謝物の AUC はいずれもマバカムテンの 5%以下であった。尿中及び胆汁中で検出された主な代謝物は MYK-2210、MYK-1078、M4 及び MYK-1065 であった。単回経口又は静脈内投与後の尿中及び胆汁中のマバカムテンは投与量の 2%未満であったことから、マバカムテンの主な消失経路は酸化的代謝であることが示唆された。これらの in vitro 及び in vivo の結果から、マバカムテンの主な消失経路は CYP による代謝であり、腎排泄は主要な消失経路でないことが示された。

ヒト肝ミクロソームにおいて、マバカムテンは 200 μM の濃度まで CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2D6 を阻害しなかった。マバカムテンは CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度に阻害したものの、臨床における治療濃度より高い濃度であったことから、これら CYP 阻害を介した DDI が臨床で認められる可能性は低いと考えられた。In vitro の結果から、マバカムテンが CYP2B6、CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 を誘導する可能性が示唆されたが、臨床 DDI 試験及び PBPK モデルを用いたシミュレーションの結果も踏まえ、これら CYP の誘導を介した DDI を引き起こす可能性は低いことが示された。

マバカムテンは P-gp、肝トランスポーターである OATP、OCT1 及び NTCP 並びに腎トランスポーターである OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質でないことが示された。In vitro 試験で、マバカムテンは治療濃度において主要な排出トランスポーター（P-gp、BCRP、BSEP、MATE1 及び MATE2-K）並びに取込みトランスポーター（OATP、OCT 及び OAT）を阻害しないことが示されたことから、これらトランスポーター阻害を介した DDI を引き起こす可能性は低いことが示唆された。

マバカムテンの非臨床薬物動態試験の結果から、マバカムテンの PK 並びに吸収、分布、代謝及び排泄の特性が確認され、有効性及び毒性試験の有益な情報として利用された。

10 参考文献

[1] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10:1093-5.

Table of Contents

1 薬物動態試験：一覧表 2
2 分析方法及びバリデーション試験 7
3 薬物動態試験： 吸収：単回投与 9
4 薬物動態試験： 吸収：反復投与 14
5 薬物動態試験： 分布 16
6 薬物動態試験： 蛋白結合 23
7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験 24
8 薬物動態試験： その他の分布試験 26
9 薬物動態試験： 代謝：*In Vivo* 30
10 薬物動態試験： 代謝：*In Vitro* 34
11 薬物動態試験： 推定代謝経路 40
12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害 41
13 薬物動態試験： 排泄 46
14 薬物動態試験： 排泄：胆汁中 47
15 薬物動態試験： 薬物相互作用 48
16 薬物動態試験： その他 54

1 薬物動態試験：一覧表

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Type of Study/Description	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number (Testing Facility Study Number)**	**Location in Dossier**
Analytical Methods and Validation Reports					
Bioanalytical quantitation of MYK-461 in plasma and tissues of preclinical species	Mouse, rat, dog, monkey plasma and tissues	NA	MyoKardia	NC-19-0022	4.2.2.1-1
Bioanalytical method validation for the quantitation of MYK-461 and MYK-460 in mouse plasma	Mouse Plasma	NA	[redacted]	DOS1749 ([redacted])	4.2.2.1-2
Bioanalytical method validation for the quantitation of MYK-461 and MYK-460 in rat plasma	Rat plasma	NA	[redacted]	NC-15-0012 ([redacted])	4.2.2.1-3
Bioanalytical method validation for the quantitation of MYK-461 and MYK-460 in dog plasma	Dog plasma	NA	[redacted]	NC-15-0011 ([redacted])	4.2.2.1-4
Bioanalytical method validation for the quantitation of MYK-461 and MYK-460 in rabbit plasma	Rabbit plasma	NA	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-5
Absorption					
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male mice	C57BL/6 mouse	Intravenous or oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0015	4.2.2.2-1
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male mice	129SvEv mouse	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0016	4.2.2.2-2
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male rats	Sprague Dawley rat	Intravenous or oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0018	4.2.2.2-3

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview (Continued)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Type of Study/Description	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number (Testing Facility Study Number)**	**Location in Dossier**
Summary of single oral dose pharmacokinetic studies of MYK-461 to male rats to assess absorption	Sprague Dawley rat	Oral gavage	MyoKardia, [redacted], [redacted]	NC-14-0065	4.2.2.2-4
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male dogs	Beagle dog	Intravenous or oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0024	4.2.2.2-5
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male monkey	Cynomolgus monkey	Intravenous or oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0028	4.2.2.2-6
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male dogs – Assess form and formulation	Beagle dog	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0025	4.2.2.2-7
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male dogs – Assess form and formulation	Beagle dog	Oral gavage	MyoKardia, [redacted], [redacted]	NC-14-0064	4.2.2.2-8
Effect of ad libitum food on the absorption of MYK-461 in rats	Sprague Dawley rat	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0019	4.2.2.2-9
Effect of ad libitum food on the absorption of MYK-461 in dogs	Beagle dog	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0026	4.2.2.2-10
Repeat dose toxicokinetics of MYK-461 in rats	Sprague Dawley rat	Oral gavage	[redacted]	NC-14-0066 ([redacted])	4.2.3.2-2
Repeat dose toxicokinetics of MYK-461 in rats	Sprague Dawley rat	Oral gavage	[redacted]	NC-15-0008 ([redacted])	4.2.3.2-3
Repeat dose toxicokinetics of MYK-461 in dogs	Beagle dog	Oral gavage	[redacted]	NC-15-0009 ([redacted])	4.2.3.2-7
Repeat dose toxicokinetics of MYK-461 in pregnant rats	Sprague Dawley rat	Oral gavage	[redacted]	NC-16-0004 ([redacted])	4.2.3.5.2-2
Repeat dose toxicokinetics of MYK-461 in pregnant rabbits	New Zealand White rabbit	Oral gavage	[redacted]	NC-16-0051 ([redacted])	4.2.3.5.2-5

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview (Continued)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Type of Study/Description	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number (Testing Facility Study Number)**	**Location in Dossier**
Caco-2 cell permeability assay	In vitro, Caco-2 cells	NA	[redacted]	NC-17-0022 ([redacted])	4.2.2.2-11
Caco-2 cell permeability assay	In vitro, Caco-2 cells	NA	[redacted]	NC-19-0016 ([redacted])	4.2.2.2-12
Distribution					
Repeat dose exposures of MYK-461 in male mice	129SvEv mouse	Oral	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0016	4.2.2.2-2
Pharmacokinetics, distribution, metabolism and excretion of [^{14}C]MYK-461 in rats	Sprague Dawley rat, Long-Evans rat	Oral gavage	[redacted]	NC-19-0007 ([redacted])	4.2.2.3-1
Single and repeat dose pharmacokinetics of MYK-461 in male rats - Tissue distribution study	Sprague Dawley rat	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0023	4.2.2.3-2
Distribution of MYK-461 in dogs	Beagle dog	Oral gavage	[redacted]	NC-19-0029 ([redacted])	4.2.3.1-1
Plasma protein binding	In vitro, plasma	NA	MyoKardia	NC-17-0016	4.2.2.3-3
Blood to plasma ratio	In vitro, blood	NA	MyoKardia	NC-17-0016	4.2.2.3-3
Metabolism					
In vivo metabolism profiling from rat [^{14}C]MYK-461 study	Sprague Dawley rat	Intravenous or oral gavage	MyoKardia	NC-20-0025	4.2.2.4-1
Single dose pharmacokinetics of MYK-461 in male rats - Portal vein study	Sprague Dawley rat	Oral gavage	MyoKardia, [redacted]	NC-14-0021	4.2.2.4-2
In vivo enantiomeric ratio of MYK-461 in rats and dogs	Sprague Dawley rat, Beagle dog	Oral gavage	[redacted]	NC-15-0008 ([redacted]), NC-15-0009 ([redacted])	4.2.3.2-3, 4.2.3.2-7

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview (Continued)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Type of Study/Description	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number (Testing Facility Study Number)**	**Location in Dossier**
Metabolic stability of [^{14}C]MYK-461 in liver microsomes	In vitro, liver microsomes	NA	MyoKardia	NC-17-0019	4.2.2.4-3
Metabolic stability of MYK-461 in hepatocytes	In vitro, hepatocytes	NA	MyoKardia	NC-19-0021	4.2.2.4-4
Metabolism of [^{14}C]MYK-461 by liver microsomes and hepatocytes from human and preclinical species	In vitro, liver microsomes and hepatocytes	NA	MyoKardia	NC-17-0017	4.2.2.4-5
CYP phenotyping of MYK-461	In vitro, human liver microsomes	NA	MyoKardia	NC-17-0018	4.2.2.4-6
Excretion					
Pharmacokinetics, distribution, metabolism, and excretion of [^{14}C]MYK-461 following oral or intravenous administration to male rats	Sprague Dawley rat	Intravenous or oral gavage	[redacted]	NC-19-0007 ([redacted])	4.2.2.3-1
Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of [^{14}C]MYK-461 following oral or intravenous administration to rats	Sprague Dawley rat	Intravenous or oral gavage	[redacted]	NC-19-0026 ([redacted])	4.2.2.5-1
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Inhibition of CYP enzymes by MYK-461 in human liver microsomes	In vitro, human liver microsomes	NA	MyoKardia	NC-17-0020	4.2.2.6-1
Inhibition of human CYP enzymes	In vitro, human liver microsomes	NA	[redacted]	NC-19-0019 ([redacted])	4.2.2.6-2
Time-dependent inhibition of CYP enzymes by MYK-461 in human microsomes	In vitro, human liver microsomes	NA	MyoKardia	NC-17-0021	4.2.2.6-3
Evaluation of mechanism-based inhibition of CYP2C19 and CYP2D6	In vitro, human liver microsomes	NA	[redacted]	NC-19-0018 ([redacted])	4.2.2.6-4

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview (Continued)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Type of Study/Description	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number (Testing Facility Study Number)**	**Location in Dossier**
Evaluation of induction potential of CYP enzymes by MYK-461 in cultured human hepatocytes	In vitro, primary human hepatocytes	NA	[redacted]	NC-19-0006 ([redacted])	4.2.2.6-5
Evaluation of the potential induction effect on CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 Gene Expression	In vitro, primary human hepatocytes	NA	[redacted]	NC-19-0012 ([redacted])	4.2.2.6-6
Evaluation of the uptake of MYK-461 by human hepatocytes – Substrate potential for transporters	In vitro, primary human hepatocytes	NA	[redacted]	NC-19-0014 ([redacted])	4.2.2.6-7
Evaluation of MYK-461 as inhibitor of human efflux transporters P-gp, BCRP, BSEP, and human uptake Transporters OATP1B1, OATP1B3, OCT1 and OCT2	In vitro, Sf9 vesicles and transfected cell lines	NA	[redacted]	NC-19-0017 ([redacted])	4.2.2.6-8
Evaluation of MYK-461 as an inhibitor of human MATE1, MATE2-K efflux transporters and OAT1 and OAT3 uptake transporters	In vitro, transfected cell lines	NA	[redacted]	NC-19-0015 ([redacted])	4.2.2.6-9
Evaluation of the kidney uptake of MYK-461 – Substrate potential for transporters	In vitro, HEK cells	NA	Bristol Myers Squibb	NCPK799	4.2.2.6-10
Other pharmacokinetic studies					
Not conducted					

BCRP = breast cancer resistance protein; BSEP = bile salt export pump; CYP = cytochrome P450; HEK = human embryonic kidney; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; NA = not applicable; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein.

2 分析方法及びバリデーション試験

Table 2.6.5.2: Bioanalytical Methods

Study number / Location in Dossier	Analyte	Matrix	Method	Regression Model	Calibration Range (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Inter-precision (%CV)	Intra-precision (%CV)	Accuracy (% Deviation)	Stability (RT, RI, F/T, LTS)
NC-19-0022 / 4.2.2.1-1	MYK-461	Mouse, rat, dog, monkey plasma and various tissues	LC-MS/MS	1/x or $1/x^2$ weighted	1 to 2000	NA	NA	NA	NA	NA
DOS1749 / 4.2.2.1-2	MYK-461	CBYB6F1 mouse plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	1.00 to 2000	1.00	2.4 to 3.9	1.4 to 4.5	2.7 to 8.0	RT=21h 39m; LTS=41d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C;
		CD-1 mouse plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	1.00 to 2000	1.00	2.6 to 3.4	1.1 to 3.7	−3.3 to 6.7	RT=4h 25m; LTS=41d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C
	MYK-460	CBYB6F1 mouse plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	0.250 to 500	0.250	3.3 to 4.4	1.7 to 4.5	7.1 to 9.3	RT=21h 39m; LTS=41d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=24h 19m at 4°C
		CD-1 mouse plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	0.250 to 500	0.250	2.5 to 4.0	1.2 to 5.3	0.9 to 4.9	RT=4h 25m; LTS=41d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=24h 19m at 4°C
NC-15-0012 / 4.2.2.1-3	MYK-461	Rat plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	1.00 to 2000	1.00	2.3 to 3.5	0.8 to 5.6	−6.0 to 2.0	4°C=4h 20m; LTS=199d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=116h 33m at 4°C
	MYK-460	Rat plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	0.250 to 500	0.250	2.0 to 6.9	1.0 to 8.8	−5.1 to −0.5	4°C=4h 20m; LTS=199d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=116h 33m at 4°C

Table 2.6.5.2: Bioanalytical Methods (Continued)

Study number / Location in Dossier	Analyte	Matrix	Method	Regression Model	Calibration Range (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Inter-precision (%CV)	Intra-precision (%CV)	Accuracy (% Deviation)	Stability (RT, RI, F/T, LTS)
NC-15-0011 / 4.2.2.1-4	MYK-461	Dog plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	1.00 to 2000	1.00	1.1 to 2.9	0.5 to 3.8	−9.3 to 1.7	4°C=5h 3m; LTS=196d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=106h 42m at 4°C
	MYK-460	Dog plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	0.250 to 500	0.250	1.0 to 5.6	0.6 to 5.5	−4.1 to −2.7	4°C=5h 3m; LTS=196d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=106h 42m at 4°C
[redacted] / 4.2.2.1-5	MYK-461	Rabbit plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	1.00 to 2000	1.00	3.5 to 6.8	1.9 to 5.8	−5.3 to 6.0	RT=21h 49m; LTS=46d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=167h 59m at 4°C
	MYK-460	Rabbit plasma	LC-MS/MS	$1/x^2$ weighted linear	0.250 to 500	0.250	4.7 to 8.4	1.6 to 9.1	−2.0 to 2.7	RT=21h 49m; LTS=46d at −80°C; F/T=4 cycles at −80°C; RI=167h 59m at 4°C
Additional information: MYK-460 (enantiomer of mavacamten and impurity in the active pharmaceutical ingredient) was included in the GLP validated methods.										

CV = coefficient of variation; F/T = freeze/thaw; GLP = Good Laboratory Practice; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = lower limit of quantitation; LTS = long-term stability; NA = not applicable; RI = re-injection; RT = room temperature.

3 薬物動態試験： 吸収：単回投与

Table 2.6.5.3.A: Pharmacokinetics of Mavacamten after a Single Dose Across Species (Non-GLP Studies)

				Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
Study Number:	**NC-14-0015**	**NC-14-0015**	**NC-14-0016**	**NC-14-0018**	**NC-14-0018**
Location in Dossier:	4.2.2.2-1	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2	4.2.2.2-3	4.2.2.2-3
Species:	C57BL/6 Mouse	C57BL/6 Mouse	129SvEv Mouse	Sprague Dawley Rat	Sprague Dawley Rat
No. of Animals / Sex:	24/Male	27/Male	30/Male	3/Male	3/Male
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Non-fasted	Fasted	Fasted
Batch:	Lot[redacted]	Lot[redacted]	Lot[redacted]	Lot[redacted]	Lot[redacted]
Vehicle / Formulation:	DMA:PEG400:normal saline (5:10:85)	DMA:PEG400:normal saline (5:10:85)	DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70)	DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70)	DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70)
Analyte:	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Method of Administration:	Oral gavage	Intravenous bolus	Oral gavage	Oral gavage	Intravenous bolus
Dose (mg/kg):	**1**	**1**	**2.5**	**2**	**1**
Mean (%CV) Pharmacokinetic Parameters					
Tmax (h)	0.5	NA	0.25	0.7 (43.3)	NA
Cmax (ng/mL)	564	853	1120	522 (17.9)	869 (12.0)
AUC(INF) (ng•h/mL)	3170	2180	16100	4310 (25.5)	2880 (9.10)
AUC(INF)/dose	3170	2180	6440	2160 (25.5)	2880
T-HALF (h)	4.18	7.02	6.40	8.20 (12.5)	11.2 (9.30)
% Bioavailability	145	NA	NC	74.8 (25.6)	NA
CL (mL/min/kg)	NA	7.65	NA	NA	5.82 (8.70)
Vss (L/kg)	NA	3.81	NA	NA	5.01 (14.5)

Table 2.6.5.3.A: Pharmacokinetics of Mavacamten after a Single Dose Across Species (Non-GLP Studies) (Continued)

			Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Study Number / Location in Dossier:	**NC-14-0024 / 4.2.2.2-5**	**NC-14-0024 / 4.2.2.2-5**	**NC-14-0028 / 4.2.2.2-6**	**NC-14-0028 / 4.2.2.2-6**
Species:	Beagle Dog	Beagle Dog	Cynomolgus Monkey	Cynomolgus Monkey
No. of Animals / Sex:	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male
Feeding Condition:	Fasted	Non-fasted	Non-fasted	Non-fasted
Batch:	Lot[redacted]	Lot[redacted]	Lot[redacted]	Lot[redacted]
Vehicle / Formulation:	0.5% methylcellulose	DMA:PEG400:normal saline (5:10:85)	OraSweet/OraPlus (50:50)	DMA:PEG400:normal saline (5:10:85)
Analyte:	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Method of Administration:	Oral gavage	Intravenous bolus	Oral gavage	Intravenous bolus
Dose (mg/kg):	**0.5**	**0.25**	**0.5**	**0.25**
Mean (%CV) Pharmacokinetic Parameters				
Tmax (h)	0.3 (0.0)	NA	0.7 (43.3)	NA
Cmax (ng/mL)	186 (10.7)	219 (52.2)	63.0 (37.2)	70.6 (24.0)
AUC(INF) (ng•h/mL)	7330 (10.0)[a]	4210 (30.2)[a]	1410 (32.9)	1520 (32.5)
AUC(INF) /dose	14700 (10.3)[a]	16800 (30.2)[a]	2820 (32.9)	6080
T-HALF (h)	161 (46.0)	130 (15.7)	42.7 (14.3)	44.5 (17.5)
% Bioavailability	87.1 (10.4)	NA	46.5 (32.9)	NA
CL (mL/min/kg)	NA	0.584 (20.1)	NA	2.98 (36.0)
Vss (L/kg)	NA	7.01 (38.2)	NA	10.6 (20.2)
Additional information: Mean (%CV) values were reported except for mice, in which a single value from a composite pharmacokinetic profile was reported based on sparse sampling across multiple animals.				

AUC(0-168h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; AUC(INF) = area under the concentration-time curve from time 0 extrapolated to infinity; CL = clearance; Cmax = maximum plasma concentration; CV = coefficient of variation; DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA = not applicable; NC = not calculated; PEG400 = polyethylene glycol 400; T-HALF = half-life; Tmax = time at which Cmax is observed; Vss = volume of distribution at steady-state.

[a] Presented as AUC(0-168h) and AUC(0-168h)/dose due to extensive extrapolation of terminal phase.

Table 2.6.5.3.B: Pharmacokinetics of Mavacamten after a Single Oral Dose in Rat – Dose Linearity (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-14-0066 / 4.2.3.2-2

Species: Sprague Dawley Rat **No. of Animals / Sex:** 3M/3F per group **Feeding Condition:** Fasted
Batch: Lot [redacted] **Vehicle / Formulation:** 0.5% methylcellulose **Method of Administration:** Oral gavage
Analyte: MYK-461 **Assay:** LC-MS/MS

Sex:	**Male**			**Female**		
Dose:	**1**	**3**	**10**	**1**	**3**	**10**
Mean Toxicokinetic Parameters						
Tmax (h)	2.7	1.7	2.7	1.8	2.0	4.0
Cmax (ng/mL)	98.9	331	1100	184	531	1320
Cmax/dose	98.9	110	110	184	177	132
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1600	5100	18400	1720	6520	22900
AUC(0-24h)/dose	1600	1700	1840	1720	2170	2290
T-HALF (h)	14.6	15.6	16.1	13.8	25.7	23.2

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; T-HALF = half-life; Tmax = time at which Cmax is observed.

Table 2.6.5.3.C: Effect of API Particle Size and Formulation on Absorption after a Single Oral Dose in Dog (Non-GLP Studies)

					Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Study Number:	**NC-14-0064**	**NC-14-0025**	**NC-14-0025**	**NC-14-0025**	**NC-14-0025**	**NC-14-0026**
Location in Dossier:	4.2.2.2-8	4.2.2.2-7	4.2.2.2-7	4.2.2.2-7	4.2.2.2-7	4.2.2.2-10
Species:	Beagle Dog	Beagle Dog	Beagle Dog	Beagle Dog	Beagle Dog	Beagle Dog
No. of Animals / Sex:	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male
Feeding Condition:	Non-fasted	Non-fasted	Non-fasted	Non-fasted	Non-fasted	Non-fasted
Batch:	Lot [redacted]	Lot [redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Lot [redacted]
API Particle Size Dv50 (µm)[a]:	88	88	4	4	4	316
Vehicle / Formulation:	0.5% methylcellulose[b]	API in #2 gelatin capsule	Micronized API in #2 gelatin capsule	OraSweet/ OraPlus + wetting agents	OraSweet/ OraPlus (50:50)	0.5% methylcellulose[b]
Method of Administration:	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage
Analyte:	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461	MYK-461
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Dose (mg/kg):	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Mean (%CV) Toxicokinetic Parameters						
Tmax (h)	0.5 (0.0)	2.0 (50.0)	1.5 (57.7)	0.33 (43.3)	0.25 (0.0)	0.33 (43.3)
Cmax (ng/mL)	119 (13.5)	60.8 (40.0)	337 (4.0)	866 (4.1)	896 (24.6)	178 (16.6)
AUC(0-96h) (ng•h/mL)	7860 (36.4)	3610 (20.0)	14300 (30.0)	19100 (27.9)	24100 (52.1)	7100 (6.3)
AUC(0-96h)/dose	3920 (36.4)	1810 (20.6)	7160 (28.4)	9550 (28.1)	12100 (51.9)	3550 (6.4)
T-HALF (h)	148 (29.4)	118 (20.0)	122 (9.0)	98.2 (4.8)	101 (32.4)	136 (24.2)
% Bioavailability[c]	35	16	64	85	108	32

API = active pharmaceutical ingredient; AUC(0-96h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 96 hours; Cmax = maximum plasma concentration; CV = coefficient of variation; Dv50 = median particle diameter by volume; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; T-HALF = half-life; Tmax = time at which Cmax is observed.

[a] Measured API particle size based on Dv50.
[b] API was triturated prior to formulating.
[c] Calculated bioavailability from 0.25 mg/kg intravenous AUC(0-96h) exposure from Study NC-14-0024 (4.2.2.2-5).

Table 2.6.5.3.D: Effect of Ad Libitum Food on Absorption after a Single Oral Dose in Rat and Dog (Non-GLP Studies)

			Test Article: Mavacamten (MYK-461)	
Study Number:	**NC-14-0019**		**NC-14-0026**	
Location in Dossier:	4.2.2.2-9		4.2.2.2-10	
Species:	Sprague Dawley Rat		Beagle Dog	
No. of Animals / Sex:	3/Male		3/Male	
Batch:	Lot[redacted]		Lot[redacted]	
Vehicle / Formulation:	Powder in a gelatin capsule		0.5% methylcellulose	
Method of Administration:	Oral gavage		Oral gavage	
Analyte:	MYK-461		MYK-461	
Assay:	LC-MS/MS		LC-MS/MS	
Dose (mg/kg):	**3.5**	**3.5**	**2**	**2**
Feeding Condition:	Fed ad libitum	Fasted	Fed ad libitum	Fasted
Mean (%CV) Pharmacokinetic Parameters				
Tmax (h)	0.8 (34.6)	1.3 (122)	0.333 (43.3)	0.250 (0.00)
Cmax (ng/mL)	796 (39.5)	1550 (42.7)	178 (16.6)	176 (15.8)
AUC(last) (ng•h/mL)[a]	7070 (23.8)	9280 (12.2)	7100 (6.3)	7040 (11.5)
T-HALF (h)	13.4 (19.4)	16.0 (35.2)	136 (24.2)[b]	104 (16.8)[b]
Relative Bioavailability (%)[c]	76.1 (23.8)	-	101 (5.73)	-

AUC(0-Xh) = area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; AUC(last) = area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable time point; Cmax = maximum plasma concentration; CV = coefficient of variation; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; T-HALF = half-life; Tmax = time at which Cmax is observed.

[a] AUC(last) based on AUC(0-24h) for rat and AUC(0-96h) for dog.
[b] T-HALF greater than last collected time point of 96 hours.
[c] Bioavailability calculated from AUC(0-24h) for rat and AUC(0-96h) for dog due to extensive extrapolation of terminal phase.

4 薬物動態試験： 吸収：反復投与

Table 2.6.5.4.A: Toxicokinetics of Mavacamten after Repeat Oral Doses in Rat – Dose Linearity (GLP Study)

							Test Article:	Mavacamten (MYK-461)				
							Study Number / Location in Dossier:	NC-15-0008 / 4.2.3.2-3				
Species:	Sprague Dawley Rat											
No. of Animals / Sex:	6M/6F per group											
Feeding Condition:	Fed ad libitum											
Batch:	Lot [redacted]											
Vehicle / Formulation:	0.5% methylcellulose											
Method of Administration:	Oral gavage											
Analyte:	MYK-461											
Assay:	LC-MS/MS											
Mean Toxicokinetic Parameters												
Sex:	**Male**						**Female**					
Dose (mg/kg/day)	**0.3**		**1**		**3**		**0.3**		**1**		**3**	
Day/Week	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**
Cmax (ng/mL)	28.0	60.5	108	307	323	726	33.9	62.3	124	283	475	919
Cmax/dose	93.3	202	108	307	108	242	113	208	124	283	158	306
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	442	1030	1780	4940	5790	12400	553	1000	2270	4810	8740	15200
AUC(0-24h)/dose	1470	3430	1780	4940	1930	4130	1840	3330	2270	4810	2910	5070
Additional information: Mean values were reported from a composite toxicokinetic profile based on sparse sampling across multiple animals (n=3 per sex per time point).												

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male.

Table 2.6.5.4.B: Toxicokinetics of Mavacamten after Repeat Oral Doses in Dog – Dose Linearity (GLP Study)

						Test Article: Mavacamten (MYK-461)		
						Study Number / Location in Dossier: NC-15-0009 / 4.2.3.2-7		
Species: Beagle Dog		**No. of Animals / Sex:** 4-6M/4-6F per group				**Feeding Condition:** Fed ad libitum		
Batch: Lot[redacted]		**Vehicle / Formulation:** 0.5% methylcellulose				**Method of Administration:** Oral gavage		
Analyte: MYK-461		**Assay:** LC-MS/MS						
Mean (SD) Toxicokinetic Parameters								
Sex:	**Male**							
Dose (mg/kg/day)	**0.1**		**0.3**		**1**		**3**	
Day/Week	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**
Cmax (ng/mL)	33.4 (5.4)	88.9 (19.4)	60.1 (13.8)	303 (82)	150 (32)	-[a]	296 (64)	-[b]
Cmax/dose	334	889	200	1010	150	NA	98.7	NA
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	220 (38)	1690 (370)	621 (120)	5900 (1700)	1720 (250)	-[a]	3400 (620)	-[b]
AUC(0-24h)/dose	2200	16900	2070	19700	1720	NA	1130	NA
Sex:	**Female**							
Dose (mg/kg/day)	0.1		0.3		1		3	
Day/Week	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6	Day 1	Week 6
Cmax (ng/mL)	33.6 (16.1)	110 (30)	56.1 (20.0)	220 (35)	178 (41)	-[a]	370 (90)	-[b]
Cmax/dose	336	1100	187	733	178	NA	123	NA
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	239 (93)	1480 (500)	553 (43)	3700 (780)	1630 (540)	-[a]	4850 (950)	-[b]
AUC(0-24h)/dose	2390	14800	1840	12300	1630	NA	1620	NA

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA = not applicable; M = male; SD = standard deviation.

[a] Animals received treatment for 25 or 26 days, then treatment was suspended.
[b] Animal received treatment for 6 or 7 days, then treatment was suspended.

5 薬物動態試験： 分布

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study)

	Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
	Study Number / Location in Dossier: NC-19-0007 / 4.2.2.3-1
Species:	Long Evans Rat (pigmented); Sprague Dawley Rat (non-pigmented)
No. of Animals / Sex:	9/Male (Long Evans); 5/Male (Sprague Dawley)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70)
Method of Administration:	Oral gavage
Analyte:	^{14}C radionuclide
Assay:	Quantitative whole-body autoradiography (Liquid scintillation counting for plasma)
Dose (mg/kg):	1
Specific Activity:	187 µCi/mg

	Long Evans Rat								
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**B40677 (0.5 h)**	**B40678 (1 h)**	**B40679 (4 h)**	**B40680 (8 h)**	**B40681 (24 h)**	**B40682 (72 h)**	**B40683 (168 h)**	**B40684 (336 h)**	**B40685 (720 h)**
Adrenal gland(s)	648	357	250	187	99.9	19.0	18.0	6.51[a]	ND
Arterial wall	572	403	207	144	106	28.9	29.4	29.9	15.0
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	313	178	128	92.3	38.6	BLQ	BLQ	ND	ND
Bone	24.3	12.7	13.0	9.50	BLQ	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	268	148	90.0	85.9	37.7	5.83	5.28	ND	ND
Brain cerebellum	15.7	17.0	20.7	26.8	30.9	18.8	16.6	6.81	BLQ

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-19-0007 / 4.2.2.3-1

Tissue	Long Evans Rat								
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B40677 (0.5 h)	B40678 (1 h)	B40679 (4 h)	B40680 (8 h)	B40681 (24 h)	B40682 (72 h)	B40683 (168 h)	B40684 (336 h)	B40685 (720 h)
Brain cerebrum	17.9	17.2	22.7	27.3	34.1	24.0	20.5	8.97	BLQ
Brain medulla	18.0	22.0	22.2	27.3	40.7	28.5	24.5	11.3	BLQ
Brain olfactory lobe	15.9	12.3	11.0	20.4	36.4	23.0	27.3	10.1	BLQ
Bulbo-urethral gland	392	227	145	127	63.9	13.7	11.4	BLQ	ND
Cecum	282	237	168	151	51.8	36.8	29.7	14.7	9.35
Diaphragm	2290	2510	1630	1330	693	280	196	101	50.8
Epididymis	132[a]	157	97.5[a]	34.6	22.9	BLQ	ND	ND	ND
Esophagus	1110	1280	805	691	233	66.0	56.7	16.7	11.8
Exorbital lacrimal gland	410	219	161	143	75.4	10.7	10.7	BLQ	BLQ
Eye lens	6.48	7.05	9.22	6.74	9.16	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Eye uveal tract	341	173	154	149	105	72.0	72.5	85.8	57.7
Eye(s)	54.9	45.8	32.8	41.2	23.3	19.5	12.1	13.8	13.0
Fat (abdominal)	180	79.2	54.8	43.2	18.0	BLQ	ND	ND	ND
Fat (brown)	353	247	227	198	133	26.7	47.5	19.3	BLQ
Harderian gland	681	435	266	226	126	8.09	18.9	9.63	BLQ
Intra-orbital lacrimal gland	407	240	145	125	62.9	9.04	9.29	ND	ND
Kidney cortex	1080	728	678	548	433	213	194	193	94.2
Kidney medulla	726	570	400	358	312	163	126	71.6	36.8

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

						Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)		
						Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0007 / 4.2.2.3-1		
	Long Evans Rat								
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
Tissue	**B40677 (0.5 h)**	**B40678 (1 h)**	**B40679 (4 h)**	**B40680 (8 h)**	**B40681 (24 h)**	**B40682 (72 h)**	**B40683 (168 h)**	**B40684 (336 h)**	**B40685 (720 h)**
Kidney(s)	1020	669	576	473	410	203	221	179	87.6
Large intestine	265	164	123	150	244	37.4	23.3	8.25	ND
Liver	2320	862	671	475	153	33.6	28.7	11.0	ND
Lung(s)	328	167	108	90.7	50.4	7.49	ND	ND	ND
Lymph node(s)	255	154	106	77.0	29.7	8.79	ND	ND	ND
Muscle	719	981	1320	1080	437	161	120	39.5	25.6
Myocardium	4380	3780	2670	2020	1360	435	397	200	67.2
Nasal turbinates	104	69.7	81.5	71.4	66.1	22.1	13.0	7.26	ND
Pancreas	381	188	120	114	38.1	ND	ND	ND	ND
Pituitary gland	367	195	111	99.1	36.5	6.95	ND	ND	ND
Plasma	505	278	166	136	46.2	4.31	2.63	1.06	BLQ
Preputial gland	257[a]	182[a]	92.7[a]	82.6	52.1	31.1[a]	BLQ	ND	ND
Prostate gland	240	191	110	95.8	36.8	5.80	BLQ	ND	ND
Salivary gland(s)	1160	1440	1690	1710	484	95.7	64.0	27.7	8.61
Seminal vesicle(s)	135	116[a]	94.7	50.5[a]	22.5	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	185	143	87.8	61.9	30.0	6.64	BLQ	ND	ND
Skin (pigmented)	229	161	105	72.7	37.6	17.9	5.86	BLQ	ND
Small intestine	749	609	546	444	139	14.9	ND	ND	ND

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-19-0007 / 4.2.2.3-1

Tissue	Long Evans Rat								
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)								
	Animal Number (Sacrifice Time)								
	B40677 (0.5 h)	B40678 (1 h)	B40679 (4 h)	B40680 (8 h)	B40681 (24 h)	B40682 (72 h)	B40683 (168 h)	B40684 (336 h)	B40685 (720 h)
Spinal cord	22.3	22.6	10.2	38.9	31.7	42.0	25.9	7.43	5.37
Spleen	282	142	89.1	68.5	30.6	BLQ	BLQ	ND	ND
Stomach	272	260	142	149	90.6	ND	ND	ND	ND
Stomach mucosa	666	431	392	351	244	109	66.2	34.4	11.4
Stomach wall	314	137	96.4	71.1	39.1	ND	ND	ND	ND
Testis(es)	47.8	59.5	43.0	31.9	13.7	BLQ	ND	ND	ND
Thymus	219	124	64.2	53.0	18.2	BLQ	ND	ND	ND
Thyroid	431	407	373	241	116	30.1	14.9	9.19	BLQ
Urinary bladder	378	229	102	93.4	95.8	BLQ	ND	ND	ND
Urine	2560	2720	1330	347	1430	41.4	45.7	ND	6.21

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

			Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)	
			Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0007 / 4.2.2.3-1	
	Sprague Dawley Rat				
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)				
	Animal Number (Sacrifice Time)				
Tissue	**B40672 (1 h)**	**B40673 (4 h)**	**B40674 (24 h)**	**B40675 (48 h)**	**B40676 (168 h)**
Adrenal gland(s)	446	251[a]	129	35.5	12.5
Arterial wall	504	241	83.9	35.7	24.2
Bile	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	275	120	32.5	6.18	BLQ
Bone	59.9	21.4	8.27	BLQ	ND
Bone marrow	177	98.9	30.9	8.60	BLQ
Brain cerebellum	19.1	17.4	26.7	23.4	12.8
Brain cerebrum	17.4	20.0	29.0	29.3	16.9
Brain medulla	17.9	18.2	34.1	31.8	17.1
Brain olfactory lobe	20.2	16.0	29.3	39.7	20.0
Bulbo-urethral gland	273	137	57.4	20.3	11.1
Cecum	291	266	52.5	16.6	46.6
Diaphragm	2650	1800	745	433	197
Epididymis	201	94.3	29.1	6.04	BLQ
Esophagus	1630	1150	223	90.3	33.6
Exorbital lacrimal gland	295	177	79.0	36.7	16.1
Eye lens	21.6	8.82	9.26	BLQ	BLQ
Eye uveal tract	146	166	29.7	16.5	13.2

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-19-0007 / 4.2.2.3-1

	Sprague Dawley Rat				
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)				
	Animal Number (Sacrifice Time)				
Tissue	**B40672 (1 h)**	**B40673 (4 h)**	**B40674 (24 h)**	**B40675 (48 h)**	**B40676 (168 h)**
Eye(s)	40.3	24.5	13.8	BLQ	BLQ
Fat (abdominal)	96.4	57.6	30.3	8.72	ND
Fat (brown)	376	279	108	42.0	27.4
Harderian gland	536	234	97.5	26.9	12.1
Intra-orbital lacrimal gland	285	164	70.7	19.3	6.23
Kidney cortex	1040	697	494	263	197
Kidney medulla	600	431	320	207	122
Kidney(s)	794	611	439	252	159
Large intestine	207	134	103	63.1	19.8
Liver	1220	495	136	42.8	24.8
Lung(s)	191	102	43.9	10.8	5.59
Lymph node(s)	167	79.0[a]	23.9[a]	6.50	BLQ
Muscle	773	1500	422	143	77.0
Myocardium	4360	2770	1260	731	291
Nasal turbinates	93.9	75.1	64.2	27.9	11.9
Pancreas	250	149	36.8	6.46	ND
Pituitary gland	246	150	25.9	5.96	ND
Plasma	370	163	41.5	7.08	1.29

Table 2.6.5.5.A: Mavacamten Organ Distribution in Rat (Non-GLP Study) (Continued)

	Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)			
	Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0007 / 4.2.2.3-1			
	Sprague Dawley Rat				
	Concentration (ng Equivalents [^{14}C]MYK-461/g)				
	Animal Number (Sacrifice Time)				
Tissue	**B40672 (1 h)**	**B40673 (4 h)**	**B40674 (24 h)**	**B40675 (48 h)**	**B40676 (168 h)**
Preputial gland	298[a]	127[a]	57.0[a]	14.9[a]	ND
Prostate gland	209	103	46.1	16.0	ND
Salivary gland(s)	1260	368	371	240	96.2
Seminal vesicle(s)	133	83.[2a]	24.7	6.34	ND
Skin (nonpigmented)	175	81.0	27.7	7.85	BLQ
Small intestine	464	482	94.7	46.6	18.9
Spinal cord	24.2	20.7	26.9	45.6	15.6
Spleen	171	95.6	24.2	5.36	ND
Stomach	272	174	75.1	52.4	ND
Stomach mucosa	590	354	206	132	62.0
Stomach wall	232	101	27.7	7.17	ND
Testis(es)	61.4	43.6	12.4	BLQ	ND
Thymus	158	70.9	17.9	BLQ	ND
Thyroid	320	256	104	33.5	19.7
Urinary bladder	260	110	151	159	54.9
Urine	1660	3460	1810	118	43.5

BLQ = below the limit of quantitation of 5.24 ng equivalents [^{14}C]MYK-461/g; DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; ND = not detectable (sample shape not discernable from background or surrounding tissue); PEG400 = polyethylene glycol 400.

[a] Tissue appeared to be fat-soaked.

6 薬物動態試験： 蛋白結合

Table 2.6.5.6.A: Plasma Protein Binding (Non-GLP Study)

				Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
				Study Number / Location in Dossier:	NC-17-0016 / 4.2.2.3-3
Study System:	In vitro: plasma (EDTA) for each species; gender: male				
Analyte:	^{14}C radionuclide				
Method:	Rapid equilibrium dialysis in triplicate (20 h at 37°C); analysis of [^{14}C]MYK-461 radioactivity levels by liquid scintillation counting				
Species (Strain)	**Mouse (C57BL/6)**	**Rat (Sprague Dawley)**	**Dog (Beagle)**	**Monkey (Cynomolgus)**	**Human**
Test Concentration	**Mean (SD) % Bound**				
0.2 µM (54.67 ng/mL)	83.6 (0.40)	89.4 (0.28)	92.6 (0.16)	96.9 (0.17)	92.9 (0.84)
1 µM (273 ng/mL)	84.2 (1.1)	89.1 (0.36)	91.9 (0.29)	96.5 (0.20)	93.3 (0.24)
10 µM (2733 ng/mL)	84.0 (0.37)	88.5 (0.35)	88.8 (0.60)	91.9 (0.17)	93.1 (0.24)
Overall Mean %PPB[a]	83.9	89.0	91.1	95.1	93.1
SD	0.3	0.5	2.0	2.8	0.2

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; PPB = plasma protein binding; SD = standard deviation.

[a] Average percent plasma protein binding over the concentration range.

7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験

Table 2.6.5.7.A: Pharmacokinetics of Mavacamten after Repeat Oral Dosing in Pregnant Rat (GLP Study)

			Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
			Study Number / Location in Dossier:	NC-16-0004 / 4.2.3.5.2-2
Species:		Pregnant Sprague Dawley Rat		
Gestation Days / No. of Animals:		Gestation Days 6-12 / 6 females per group (3 per time point)		
Feeding Condition:		Fed ad libitum		
Vehicle / Formulation:		0.5% methylcellulose		
Method of Administration:		Oral gavage for 7 days		
Analyte:		MYK-461 and MYK-460 (enantiomer of mavacamten and [redacted]% impurity in active pharmaceutical ingredient)		
Assay:		LC-MS/MS		
Analyte	**Day**	**Dosing Day 7 (Gestation Day 12)**		
	Dose (mg/kg/day)	**0.3**	**0.75**	**1.5**
MYK-461	Cmax (ng/mL)	116	356	1080
	Cmax/dose	387	475	720
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1520	5690	16500
	AUC(0-24h)/dose	5067	7587	11000
MYK-460	Cmax (ng/mL)	BLQ	BLQ	BLQ
	Cmax %MYK-460/Mavacamten	-	-	-
	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	-	-	-
	AUC(0-24h) %MYK-460/Mavacamten	-	-	-
Additional information: Mean values were reported from a composite toxicokinetic profile based on sparse sampling across multiple animals (n=3 per time point).				

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ = below limit of quantification of 0.250 ng/mL; Cmax = maximum plasma concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

Table 2.6.5.7.B: Pharmacokinetics of Mavacamten after Repeat Oral Dosing in Pregnant Rabbit (GLP Study)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)		
				Study Number / Location in Dossier: NC-16-0051 / 4.2.3.5.2-5		
Species: Pregnant New Zealand White Rabbit **Gestation Days / No. of Animals:** GD 6-12 / 3F per group **Feeding Condition:** Fed ad libitum						
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose **Method of Administration:** Oral gavage for 7 days **Assay:** LC-MS/MS						
Analyte: MYK-461 and MYK-460 (enantiomer of mavacamten and at [redacted]% w/w in lot [redacted])						
Analyte	**MYK-461**			**MYK-460**		
Dose (mg/kg/day)	**0.6**	**1.2**	**2.0**	**0.6**	**1.2**	**2.0**
Mean (%CV) Toxicokinetic Parameters						
Dosing Day 7 (GD 12)						
Cmax (ng/mL)	516 (29)	1100 (5.0)	1680 (11)	BLQ	BLQ	0.406 (15)
Cmax/dose	860	917	840	-	-	-
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	7160 (20)	16500 (12)	29000 (15)	-	-	0.426 (33)
AUC/dose	11900	13800	14500	-	-	-
Cmax %MYK-460/Mavacamten	-	-	-	-	-	0.024
AUC(0-24h) %MYK-460/Mavacamten	-	-	-	-	-	0.001
GD 13						
Embryonic tissue (ng/g)	25.2 (10)	54.2 (1.5)	123 (15)	-	-	-
Tissue to plasma ratio	0.12	0.11	0.13	-	-	-
Extra-embryonic tissue[a] (ng/g)	58.2 (19)	121 (28)	219 (15)	-	-	-
Tissue to plasma ratio	0.28	0.24	0.22	-	-	-

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ = below limit of quantification of 0.250 ng/mL; Cmax = maximum plasma concentration; CV = coefficient of variation; GD = gestation day; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

[a] Extra-embryonic tissue: fetal envelopes, placenta, amniotic fluid.

8 薬物動態試験： その他の分布試験

Table 2.6.5.8.A: Mavacamten Distribution to Heart Tissue after Repeat Oral Doses in Mouse (Non-GLP Study)

				Test Article:	Mavacamten (MYK-461)	
				Study Number / Location in Dossier:	NC-14-0016 / 4.2.2.2-2	
Species:	129SvEv Mouse					
No. of Animals / Sex:	24/Male					
Feeding Condition:	Fed ad libitum					
Vehicle / Formulation:	In drinking water containing 1% dimethyl sulfoxide (prepared at 0.0125 mg/mL mavacamten)					
Method of Administration:	Dose administered ad libitum in drinking water for 5 days					
Analyte:	MYK-461					
Assay:	LC-MS/MS					
Dose (mg/kg/day):	2.5					
Time point (h)		**24**	**48**	**72**	**96**	**120**
Mean Heart Tissue Concentration (ng/mL)		1730	1650	1420	1980	1460
Mean Plasma Concentration (ng/mL)		577	819	446	663	655
Heart: Plasma Concentration Ratio		3.0	2.1	3.1	3.0	2.2
Additional information: Individual mice (n=3 per time point) were used for terminal blood and heart tissue collection.						

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

Table 2.6.5.8.B: Mavacamten Distribution to Striated Muscle after Repeat Oral Dosing in Rat (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-14-0023 / 4.2.2.3-2

Species: Sprague Dawley Rat **No. of Animals / Sex:** 3M per group **Feeding Condition:** Non-fasted
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose **Method of Administration:** Oral gavage **Analyte:** MYK-461
Assay: LC-MS/MS **Dose (mg/kg/day):** 1

	Mavacamten concentration at 24h postdose (ng/mL for plasma or ng/g for tissue)				**Tissue:plasma Ratio**			
Day	**1**		**7**		**1**		**7**	
Tissue	Mean	%CV	Mean	%CV	Mean	%CV	Mean	%CV
Plasma	48.9	122	40.0	74.3	NA	NA	NA	NA
Liver	163	117	123	84.2	3.40	10.1	2.91	12.8
Spleen	22.2[a]	NA	15.3[a]	NA	0.355[a]	NA	0.255[a]	NA
Lung	86.6	127	52.6	85.3	1.59	15.8	1.25	11.1
Esophagus	181	147	152	80.0	3.08	49.2	3.70	5.8
Soleus	824	85.2	743	70.8	23.5	40.6	18.9	3.5
EDL	503	116	365	70.5	10.2	22.4	9.34	7.7
Heart	476	97.6	375	77.8	11.6	35.5	9.14	9.9
Kidney	139	119	101	95.2	2.86	10.0	2.28	22.1
Brain	1.69[b]	NA	BLQ	NA	NA	NA	NA	NA

BLQ = below the limit of quantitation of 1 ng/g; CV = coefficient of variation; EDL = extensor digitorum longus; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable.

[a] Mean of 2 animals. One of 3 animals resulted in a concentration BLQ.
[b] Based on a single animal. Two of 3 animals resulted in concentrations BLQ.

Table 2.6.5.8.C: Mavacamten Distribution to Cardiac and Skeletal Muscle after Single Oral Dose in Dog (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-19-0029 / 4.2.3.1-1

Species:	Beagle Dog
No. of Animals / Sex:	4M/4F
Feeding Condition:	Fed ad libitum
Vehicle / Formulation:	0.5% methylcellulose
Method of Administration:	Oral gavage
Analyte:	MYK-461
Assay:	LC-MS/MS

	Mavacamten Concentration at 7 days postdose (ng/mL for plasma, ng/g for tissue)				**Tissue:Plasma Ratio**			
Dose (mg/kg)	**1.5**	**4.5**	**7**		**1.5**	**4.5**	**7**	
Sex (n=1)[a]	**Female**	**Female**	**Female**	**Male**	**Female**	**Female**	**Female**	**Male**
Plasma	35.8	56.1	53.7	88.9	NA	NA	NA	NA
LV	450	992	1260	1850	12.6	17.7	23.5	20.8
FDL (soleus)	306	1080	1100	2710	8.55	19.3	20.5	30.5
EDL	378	859	963	1850	10.6	15.3	17.9	20.8

EDL = extensor digitorum longus; F = female; FDL = flexor digitorum longus (soleus); LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LV = left ventricle; M = male; NA = not applicable.

[a] Tissue was collected from select animals on study. The data are presented as individual plasma or tissue concentrations.

Table 2.6.5.8.D: Blood-to-Plasma Partitioning (Non-GLP Study)

			Test Article: Mavacamten (MYK-461), [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)		
			Study Number / Location in Dossier: NC-17-0016 / 4.2.2.3-3		
Study System: In vitro: pooled whole blood for each species; gender: male					
Method: Blood-to-Plasma Partitioning determination in triplicate (15 min at 37°C); analysis by LC-MS/MS or liquid scintillation counting					
Species (Strain)	**Mouse (C57BL/6)**	**Rat (Sprague Dawley)**	**Dog (Beagle)**	**Monkey (Cynomolgus)**	**Human**
Test Concentration	**Mean (SD) Blood-to-Plasma Ratio**				
1 μM MYK-461	0.72 (0.10)	0.82 (0.11)	0.78 (0.14)	0.82 (0.09)	0.79 (0.12)
1 μM [^{14}C]MYK-461	-	0.80 (0.04)	-	-	-

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; SD = standard deviation.

9 藥物動態試驗： 代謝：*In Vivo*

Table 2.6.5.9.A: In Vivo Metabolism after Single Dose Oral or Intravenous Dosing in Rat (Non-GLP Study)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-20-0025 / 4.2.2.4-1

Species: Sprague Dawley Rat **Feeding Condition:** Fasted

No. of Animals / Sex: 3M (Group 1); 4M (Groups 3, 4, and 5); In-life Study Number NC-19-0007 (4.2.2.3-1)

Method of Administration: Oral gavage (Groups 1 and 4); intravenous bolus (IV) to bile duct-cannulated rats (Group 3); IV (Group 5)

Vehicle / Formulation: DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70) **Analyte:** ^{14}C radionuclide **Assay:** LC-radiometric detection; LC-MS/MS

Dose (mg/kg): 1 **Specific Activity:** 187 µCi/mg

Dosing Route	**Oral**			**IV bolus**			
Matrix	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Plasma**[a]	**Urine**	**Bile**	**Feces**
Sampling Time	**0-72 h**	**0-120 h**		**0-72 h**	**0-96 h**		
Mean (SD) % of Dose in Sample	-	22.6 (2.95)	58.0 (1.25)	-	31.0 (14.0)	41.1 (16.4)	7.59 (1.82)
% of Total Radioactivity							
Parent	45.3[b]	7.07	NC	66.9[b]	6.17	3.90	NC
M1, MYK-2210	ND	44.2	NC	1.98[c]	19.2	10.3	NC
M2, MYK-1078	ND	14.1	NC	ND	8.14	3.90	NC
M4	ND	0.76	NC	ND	24.1	56.3	NC
M8, MYK-1065	ND	ND	NC	ND	2.00	11.4	NC
Total	-	66.1	-	100	59.6	85.8	-

Additional information: The amount of parent mavacamten as a percent of total dose in rat urine or bile was < 2% from the single oral or IV dose.

AUC(0-t) = area under the concentration vs. time-curve from time 0 to the last time point; DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC = liquid chromatography; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not characterized; ND = not detected; PEG400 = polyethylene glycol 400; SD = standard deviation.

[a] Only MYK-2210 was detected by LC-radiometric analysis. MYK-2210 and MYK-1078 along with other very low level components were detected by LC-MS/MS in rat plasma.

[b] MYK-461 AUC(0-t) by LC-MS/MS / [^{14}C]MYK-461 (total radioactivity) AUC(0-t) by LC-radiometric detection × 100.

[c] MYK-2210 AUC(0-t) by LC-MS/MS / [^{14}C]MYK-461 (total radioactivity) AUC(0-t) by LC-radiometric detection × 100.

Table 2.6.5.9.B: In Vivo Metabolism – Portal Vein Cannulated Study in Rat (Non-GLP Study)

		Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
		Study Number / Location in Dossier:	NC-14-0021 / 4.2.2.4-2
Species:	Sprague Dawley Rat		
No. of Animals / Sex:	3/Male		
Feeding Condition:	Fasted		
Vehicle / Formulation:	DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70)		
Method of Administration:	Oral gavage to femoral and portal vein cannulated rats for plasma pharmacokinetic sampling		
Analyte:	MYK-461		
Assay:	LC-MS/MS		
Dose (mg/kg)	**2**	**2**	**1**
Sampling Site	**Portal Vein Sampling[a]**	**Femoral Vein Sampling**	**IV PK Parameters[b]**
Mean (%CV) PK Parameters			
Tmax (h)	0.25	0.33 (43.3)	NA
Cmax (ng/mL)	1430	605 (0.668)	869 (12.0)
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	4130	3540 (18.7)	2290 (10.7)
AUC(INF) (ng•h/mL)	11800	11600 (99.6)	2880 (9.10)
T-HALF (h)	42.5	46.8 (114)	11.2 (9.30)
% Bioavailability[c]	90.2	77.3 (18.8)	-

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC(INF) = area under the concentration-time curve from time 0 extrapolated to infinity; Cmax = maximum plasma concentration; CV = coefficient of variation; DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PEG400 = polyethylene glycol 400; PK = pharmacokinetic; T-HALF = half-life; Tmax = time at which Cmax is observed.

[a] n=2 due to loss of portal vein cannula in 1 animal. Only mean PK parameters presented.
[b] IV PK parameters from Study NC-14-0018 (4.2.2.2-3).
[c] Bioavailability calculated from AUC(0-24h) due to extensive extrapolation of terminal phase.

Table 2.6.5.9.C: In Vivo Metabolism – Exposure of MYK-460 Enantiomer in Rat (GLP Study)

	Test Article: Mavacamten (MYK-461)
	Study Number / Location in Dossier: NC-15-0008 / 4.2.3.2-3
Species:	Sprague Dawley Rat
No. of Animals / Sex:	6M/6F per group
Feeding Condition:	Fed ad libitum
Vehicle / Formulation:	0.5% methylcellulose
Method of Administration:	Oral gavage
Analyte:	MYK-460 (enantiomer of mavacamten and [redacted]% impurity in active pharmaceutical ingredient)
Assay:	LC-MS/MS

Mean Toxicokinetic Parameters

Sex	**Male**						**Female**					
Dose (mg/kg/day)	**0.3**		**1**		**3**		**0.3**		**1**		**3**	
Day/Week	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**
Cmax (ng/mL)	-[a]	-[a]	0.385	0.588	1.15	1.29	-[a]	-[a]	0.543	0.888	1.58	3.20
Cmax %MYK-460/Mavacamten	NA	NA	0.36	0.19	0.36	0.18	NA	NA	0.44	0.31	0.33	0.35
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	-[a]	-[a]	-[b]	2.71	13.2	18.6	-[a]	-[a]	2.07	9.35	22.6	32.6
AUC(0-24h) %MYK-460/Mavacamten	NA	NA	NA	0.05	0.23	0.15	NA	NA	0.09	0.19	0.26	0.21

Additional information: Mean values were reported from a composite toxicokinetic profile based on sparse sampling across multiple animals (n=3 per sex per time point).

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NA = not applicable.

[a] Values at this dose level not calculated due to MYK-460 levels below limit of quantification of 0.250 ng/mL.

[b] Not reported as only one mean concentration at the 2 h time point was available.

Table 2.6.5.9.D: In Vivo Metabolism – Exposure of MYK-460 Enantiomer in Dog (GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-15-0009 / 4.2.3.2-7

Species: Beagle Dog **No. of Animals / Sex:** 4-6M/4-6F per group **Feeding Condition:** Fed ad libitum

Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose **Method of Administration:** Oral gavage **Assay:** LC-MS/MS

Analyte: MYK-460 (enantiomer of mavacamten and [redacted]% impurity in active pharmaceutical ingredient)

Mean Toxicokinetic Parameters

Sex:	**Male**							
Dose	**0.1**		**0.3**		**1**		**3**	
Day/Week	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**
Cmax (ng/mL)	0.451	0.504	0.959	1.49	2.59	-[a]	4.54	-[b]
Cmax %MYK-460/Mavacamten	1.4	0.57	1.6	0.49	1.7	-[a]	1.5	-[b]
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1.71	2.11	8.89	13.0	23.9	-[a]	45.9	-[b]
AUC(0-24h) %MYK-460/Mavacamten	0.78	0.12	1.4	0.22	1.4	-[a]	1.4	-[b]
Sex:	**Female**							
Dose	**0.1**		**0.3**		**1**		**3**	
Day/Week	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**	**Day 1**	**Week 6**
Cmax (ng/mL)	0.426	0.450	0.840	1.18	2.14	-[a]	5.80	-[b]
Cmax %MYK-460/Mavacamten	1.3	0.41	1.5	0.54	1.2	-[a]	1.6	-[b]
AUC(0-24h) (ng•h/mL)	1.23	1.52	5.24	8.95	18.2	-[a]	59.0	-[b]
AUC(0-24h) %MYK-460/Mavacamten	0.51	0.10	0.95	0.24	1.1	-[a]	1.2	-[b]

AUC(0-24h) = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male.

[a] Animals received treatment for 25 or 26 days, then treatment was suspended.
[b] Animal received treatment for 6 or 7 days, then treatment was suspended.

10 薬物動態試験： 代謝：*In Vitro*

Table 2.6.5.10.A: In Vitro Metabolism – Liver Microsome Stability (Non-GLP Study)

				Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
				Location in Dossier:	4.2.2.4-3
				Study Number:	NC-17-0019
Study System:	In vitro: liver microsomes for each species				
Method:	Liver microsome stability with 1 mg/mL protein (1 h at 37°C); analysis by LC-radiometric detection				
Test Concentration:	1 µM				
Species (Strain)	**Mouse (CD-1)**	**Rat (Sprague Dawley)**	**Dog (Beagle)**	**Monkey (Cynomolgus)**	**Human**
T-HALF (min)	431	329	1611	723	1295
$CL_{predicted}$ (mL/min/kg)	3.78	3.59	0.629	1.26	0.449

$CL_{predicted}$ = predicted in vivo clearance based on well-stirred model; LC = liquid chromatography; T-HALF = half-life.

Table 2.6.5.10.B: In Vitro Metabolism – Hepatocyte Stability (Non-GLP Study)

		Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
		Location in Dossier:	4.2.2.4-4
		Study Number:	NC-19-0021
Study System:	In vitro: rat and pooled human hepatocytes		
Method:	Hepatocyte stability using 10^6 cells/mL (210 min at 37°C); analysis by LC-MS/MS		
Test Concentration:	1 μM		
Species (Strain)		**Rat (Sprague Dawley)**	**Human**
T-HALF (min)		572	> 700
$CL_{predicted}$ (mL/min/kg)		5.33	< 2.43

$CL_{predicted}$ = predicted in vivo clearance based on well-stirred model; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; T-HALF = half-life.

Table 2.6.5.10.C: In Vitro Metabolism – Liver Microsome Metabolite Profiling (Non-GLP Study)

				Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
				Location in Dossier:	4.2.2.4-5
				Study Number:	NC-17-0017
Study System:	In vitro: pooled liver microsomes for each species; gender: male in all species except human which included male and female				
Method:	Metabolite profiling was conducted in liver microsome incubation samples (incubations with 1 mM NADPH for 1 h at 37°C); analysis by LC-MS/MS or LC-radiometric detection				
Test Concentration:	5 µM				
Species (Strain)	**Mouse (CD-1)**	**Rat (Sprague Dawley)**	**Dog (Beagle)**	**Monkey (Cynomolgus)**	**Human**
Component	**% Radioactivity (Peak Area Percent of Total Radioactivity)**				
Mavacamten	92.6	93.0	97.7	94.5	96.1
M1, MYK-2210	1.44	3.46	0.770	0.530	0.850
M2, MYK-1078	0.540	0.470	0.320	2.10	0.820
M6, MYK-2241	1.88	2.13	0.640	1.92	1.35
M12	3.01	0.970	0.530	0.930	0.910
Uncharacterized	0.510	ND	ND	ND	ND

LC = liquid chromatography; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ND = not detected.

Table 2.6.5.10.D: In Vitro Metabolism – Hepatocyte Metabolite Profiling (Non-GLP Study)

			Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
			Location in Dossier:	4.2.2.4-5
			Study Number:	NC-17-0017
Study System:	In vitro: pooled hepatocytes for each species; gender: male in all species except human which included male and female			
Method:	Metabolite profiling was conducted in hepatocyte incubation samples (4 h at 37°C); analysis by LC-MS/MS or LC-radiometric detection			
Test Concentration:	10 µM			
Species (Strain)	**Rat (Sprague Dawley)**	**Dog (Beagle)**	**Monkey (Cynomolgus)**	**Human**
Component	**% Radioactivity (Peak Area Percent of Total Radioactivity)**			
Mavacamten	80.4	99.6	89.0	96.9
M1, MYK-2210	2.84	ND	1.76	0.780
M2, MYK-1078	1.15	ND	2.71	0.940
M4	9.01	ND	ND	ND
M6, MYK-2241	4.41	0.380	3.21	0.770
M10	0.790	ND	ND	ND
M11	ND	ND	1.30	ND
M13	ND	ND	2.04	ND
Uncharacterized	1.42	0.00	0.00	0.630

LC = liquid chromatography; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; ND = not detected.

Table 2.6.5.10.E: In Vitro Metabolism – CYP Reaction Phenotyping (Non-GLP Study)

	Test Article: Mavacamten (MYK-461)
	Study Number / Location in Dossier: NC-17-0018 / 4.2.2.4-6
Study System:	In vitro: pooled HLM; gender: male and female; select recombinant human CYP enzymes
Method:	Experiment 1: Determine %remaining of mavacamten after incubation with recombinant human CYP enzymes ± co-factor 1 mM NADPH (1 h at 37°C); analysis by LC-MS/MS Experiment 2: Determine %inhibition of M1, M2 and M6 metabolite formation after mavacamten incubation in 1 mg/mL HLM + 1 mM NADPH ± CYP isoform selective chemical inhibitors (1 h at 37°C); analysis by LC-MS/MS Experiment 3: The formation of 6 mavacamten metabolites in incubations with human recombinant CYP isoforms CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, and CYP2J2 was monitored. Incubations were conducted with 1 µM mavacamten incubated with 100 pmol/mL of recombinant human CYP enzymes + co-factor 1 mM NADPH (20 min at 37°C). The rates of formation were normalized with respect to the mean specific content of the corresponding CYP enzyme in native human liver microsomes (abundance, pmol/mg microsomal protein); analysis by LC-MS/MS
Test Concentration:	Experiment 1: 1 µM; Experiment 2: 10 µM; Experiment 3: 1 µM

	Experiment 1	**Experiment 2**		
Recombinant Human CYP Isoform	**Mean (SD) %Mavacamten Remaining**	**Inhibitor**	**Mean (SD) % of M1 Formation**	**Mean (SD) % of M2 Formation**
CYP1A1	93.5 (11.7)	-	-	-
CYP1A2	90.4 (2.42)	1 µM α-naphthoflavone	79.0 (4.13)	108 (5.61)
CYP1B1	93.1 (3.45)	-	-	-
CYP2B6	91.2 (2.07)	50 µM thioTEPA	113 (6.84)	109 (2.95)
CYP2C8	81.8 (1.79)	1 µM montelukast	91.9 (3.46)	117 (18.9)
CYP2C9	83.5 (3.64)	10 µM sulfaphenazole	55.0 (0.08)	112 (2.28)
CYP2C19	28.6 (1.73)	1 µM benzylnirvanol	105 (1.92)	50.8 (1.64)
CYP2D6	80.6 (4.98)	2 µM quinidine	108 (2.89)	116 (3.43)
CYP2E1	98.7 (1.69)	50 µM tranylcypromine	71.6 (7.74)	55.9 (6.65)
CYP2J2	83.3 (7.64)	-	-	-
CYP3A4	56.4 (1.01)	1 µM ketoconazole[a]	116 (4.25)	115 (4.54)
CYP3A5	42.8 (5.50)	1 µM azamulin[a]	133 (6.45)	132 (3.78)
CYP4A11	93.1 (4.59)	-	-	-
CYP4F2	97.7 (1.13)	-	-	-

Table 2.6.5.10.E: In Vitro Metabolism – CYP Reaction Phenotyping (Non-GLP Study) (Continued)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-17-0018 / 4.2.2.4-6

Experiment 3

CYP enzyme	**Abundance** in pmol CYP/mg HLM protein (% of total abundance in native HLM)	**Metabolite Formation Scaling (pmol/min/mg HLM protein)**							**Contribution based on fm (%)**
		M1 MYK-2210	**M2** MYK-1078	**M5** MYK-1096	**M6** MYK-2241	**M8** MYK-1065	**M9** MYK-2364	**All Six metabolites**	
CYP3A4	137 (31%)	38.8	86.2	36.9	121	44.9	31.5	293	18.0
CYP2C9	73 (16%)	81.1	13.8	0.00	21.7	13.1	21.6	134	7.55
CYP2C19	14 (3.2%)	8.59	1360	1.33	2.15	112	3.21	1352	74.3
CYP2J2	1.2 (0.27%)	0.35	1.31	0.12	0.17	2.08	0.18	3.82	0.21
Total	443.6	129	1460	38.4	145	172	56.5	1783	100

Additional information: In experiment 2, results for the inhibition of metabolite M6 formation were not obtained since metabolite M6 was not able to be detected in the mavacamten HLM incubations in this study.

CYP = cytochrome P450; fm = fraction metabolized; HLM = human liver microsome; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; SD = standard deviation.

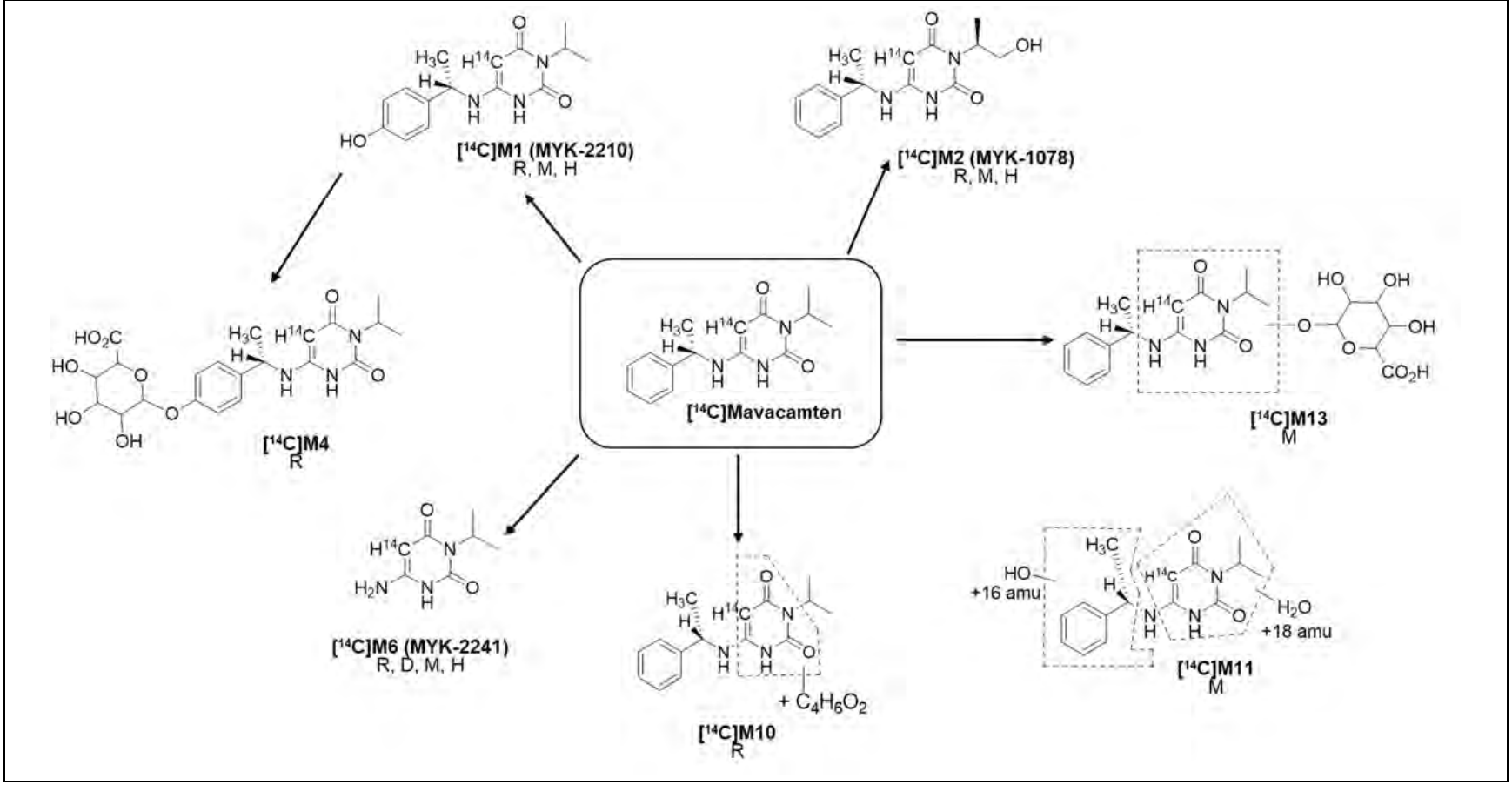
[a] CYP isoform was CYP3A4 and CYP3A5 combined.

11 薬物動態試験： 推定代謝経路

Table 2.6.5.11.A: Possible Metabolic Pathways (Non-GLP Study)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
Location in Dossier: 4.2.2.4-5
Study Number: NC-17-0017

Study System: In vitro: hepatocytes (rat, dog, monkey and human)



D = dog; H = human; M = monkey; R = rat.

12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Table 2.6.5.12.A: Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes – Human Liver Microsomes up to 10 µM (Non-GLP Study)

	Test Article: Mavacamten (MYK-461)
	Location in Dossier: 4.2.2.6-1
	Study Number: NC-17-0020
Study System:	In vitro: pooled human liver microsomes (50-donor lot); gender: male and female
Method:	Assess potential for mavacamten to inhibit the activity of select CYP isoforms in human liver microsomes following co-incubation of mavacamten (up to 10 µM) with NADPH and a probe substrate specific for each isoform; incubations in duplicate (4-30 min at 37°C depending on probe substrate); analysis by LC-MS/MS
Test Concentrations:	0.005 to 10 µM

CYP enzyme	Probe Substrate	IC50 (µM)	IC50 (ng/mL)
CYP1A2	Phenacetin	>10.0	>2730
CYP2B6	Bupropion	>10.0	>2730
CYP2C9	Diclofenac	>10.0	>2730
CYP2C19	(S)-mephenytoin	>10.0	>2730
CYP2D6	Dextromethorphan	>10.0	>2730
CYP3A4/5	Midazolam	>10.0	>2730
CYP3A4/5	Testosterone	>10.0	>2730

CYP = cytochrome P450; IC50 = half-maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

Table 2.6.5.12.B: Time-dependent Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes – Human Liver Microsomes up to 200 µM (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-19-0019 / 4.2.2.6-2

Study System: In vitro: pooled human liver microsomes (50-donor lot); gender: male and female

Method: Assess potential for mavacamten to inhibit the activity of select CYP isoforms in human liver microsomes following co-incubation of mavacamten (up to 200 µM) with co-factor NADPH (1 mM) and a probe substrate specific for each isoform; Ki values were determined if IC50 < 100 µM. For time-dependent inhibition, microsomal reaction mixtures were preincubated with and without NADPH (30 min at 37°C) before enzyme reactions were initiated; all incubations in triplicate (10 min at 37°C); analysis of marker metabolite in incubations by LC-MS/MS

Test Concentrations: 3 to 200 µM

CYP enzyme	Probe Substrate	Mean (%CV) CYP Inhibition IC50 (µM)	Mean (SD) Apparent Ki (µM)	CYP Time-dependent Inhibition Potential		
				IC50 without NADPH preincubation (µM)	IC50 with NADPH during preincubation (µM)	IC50 Shift
CYP1A2	Phenacetin	No inhibition	-	No inhibition	No inhibition	-
CYP2B6	Bupropion	No inhibition	-	No inhibition	No inhibition	-
CYP2C8	Amodiaquine	No inhibition	-	No inhibition	No inhibition	-
CYP2C9	Diclofenac	82.2 (2.8)	59.5 (8.24)	117	76.3	1.53
CYP2C19	(S)-mephenytoin	89.7 (1.7)	46.2 (1.78)	75.1	31.9	2.35
CYP2D6	Dextromethorphan	No inhibition	-	>200	79.0	>2.53
CYP3A4/5	Midazolam	Activation	-	Activation	Activation	-
CYP3A4/5	Testosterone	175 (7.5)	-	142	78.4	1.81

CV = coefficient of variation; CYP = cytochrome P450; IC50 = half-maximal inhibitory concentration; Ki = inhibition constant; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; SD = standard deviation.

Table 2.6.5.12.C: Time-dependent Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes – K_{inact} and K_I Values (Non-GLP Study)

	Test Article: Mavacamten (MYK-461)
	Study Number / Location in Dossier: NC-19-0018 / 4.2.2.6-4
Study System:	In vitro: pooled human liver microsomes (50-donor lot); gender: male and female
Method:	Full kinetic characterization of mechanism-based inhibition of CYP2C19 and CYP2D6: Determine k_{inact} and K_I enzyme inactivation kinetic parameters for the time-dependent inhibition potential of CYP2C19 and CYP2D6 by mavacamten in human liver microsomes. Microsomal reaction mixtures were preincubated with co-factor NADPH (8, 16, 24, 32, or 40 min at 37°C) and without NADPH (40 min at 37°C); the reaction mixtures were taken, diluted 10-fold, and co-incubated with the CYP selective substrate and NADPH; incubations in triplicate (10 min at 37°C); analysis of marker metabolite in incubations by LC-MS/MS.
Test Concentrations:	15 to 200 µM

CYP enzyme	Probe Substrate	k_{inact} (min^{-1})	K_I (µM)	k_{inact}/K_I (min^{-1} $µM^{-1}$)
CYP2C19	(S)-mephenytoin	0.011	57.2	0.0002
CYP2D6	Dextromethorphan	0.031	260	0.0001

CYP = cytochrome P450; k_{inact} = maximal inactivation rate constant; K_I = inhibitor concentration producing half-maximal inactivation; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

Table 2.6.5.12.D: Induction of Drug Metabolizing Enzymes CYP Isoforms 1A2, 2B6 and 3A4 (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NC-19-0006 / 4.2.2.6-5

Study System: In vitro: primary cultured human hepatocytes (3 or 4 individual donor lots per isoform); gender: male or female

Method: Assess potential for mavacamten to induce CYP isoforms 1A2, 2B6, and 3A4 mRNA levels and enzymatic activity using specific probe substrate in primary cultured human hepatocytes. Induction of CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 was measured by mRNA expression and catalytic activity assays selective for each CYP isoform; incubations in triplicate (3 days at 37°C); mRNA level analyzed by real time RT-PCR and marker metabolite in incubations by LC-MS/MS

Test Concentrations: 0.05 to 15 µM

CYP enzyme		**CYP1A2**		**CYP2B6**		**CYP3A4**	
Hepatocyte Donor Lot	**Endpoint**	**EC50 (µM)**	**Emax**	**EC50 (µM)**	**Emax[a]**	**EC50 (µM)**	**Emax**
318	mRNA	No induction observed		5.0 (0.26)	8.6	2.6 (0.38)	6.7[a]
	Activity			4.4 (0.35)	7.8	0.87 (0.074)	4.1 (0.085)
348B	mRNA			5.4 (0.32)	5.7	2.1 (0.38)	5.1[a]
	Activity			3.2 (0.31)	3.6	NA	NA
312	mRNA			NA	NA	NA	NA
	Activity			NA	NA	1.4 (0.16)	9.6 (0.38)
373	mRNA			5.0 (0.63)	6.0	1.8 (0.32)	16 (1.1)
	Activity			3.6 (0.40)	4.6	1.8 (0.63)	5.9 (0.72)

Additional information: Data are the mean (SE) from 3 incubation wells.
Note: The positive control failed to induce CYP3A4 activity based on assay acceptance criteria for hepatocyte lot 348B; therefore, lot 312 was employed as a replacement lot to assess activity.

CYP = cytochrome P450; EC50 = concentration at 50% of maximal induction effect; Emax = maximal fold induction; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = messenger ribonucleic acid; RT-PCR = reverse transcription polymerase chain reaction; SE = standard error.

[a] SE not available due to Emax locked at observed maximal fold.

Table 2.6.5.12.E: Induction of Drug Metabolizing Enzymes CYP Isoforms 2C8, 2C9, 2C19, and 3A4 (Non-GLP Study)

					Test Article: Mavacamten (MYK-461)			
					Study Number / Location in Dossier: NC-19-0012 / 4.2.2.6-6			
Study System:	In vitro: primary cultured human hepatocytes (3 individual donor lots per isoform); gender: male or female							
Method:	Assess potential for mavacamten to induce CYP isoforms 2C8, 2C9, 2C19, and 3A4 mRNA levels in primary cultured human hepatocytes. Induction of CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4 mRNA expression was measured by RT-PCR assays selective for each CYP isoform; incubations in duplicate (48 h at 37°C).							
Test Concentrations:	0.015 to 20 µM							
CYP enzyme	**CYP2C8**		**CYP2C9**		**CYP2C19**		**CYP3A4**	
Hepatocyte Donor Lot	**EC50 (µM)**	**Emax**	**EC50 (µM)**	**Emax**	**EC50 (µM)**	**Emax**	**EC50 (µM)**	**Emax**
BD-304	3.52	3.52	4.98	2.34	NC	NC	4.08	6.81
IVT-IBG	2.24	2.98	1.66	1.96	3.55	2.25	2.76	8.93
HH1024	NC	NC	6.77	2.12	NC	NC	4.99	7.35
Mean (SD)	2.88 (NA)	3.25 (NA)	4.47 (2.59)	2.14 (0.19)	NA (NA)	NA (NA)	3.94 (1.12)	7.70 (1.10)
Additional information: Mavacamten exhibited no cytotoxic effect up to 20 µM. Note: The positive control failed to increase CYP2C19 mRNA expression based on assay acceptance criteria in 2 of 3 hepatocyte donor lots.								

CYP = cytochrome P450; EC50 = concentration at 50% of maximal induction effect; Emax = maximal fold induction; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable; NC = not calculated; RT-PCR = reverse transcription polymerase chain reaction; SD = standard deviation.

13 薬物動態試験： 排泄

Table 2.6.5.13.A: Mavacamten Excretion after a Single Oral Dose in Rat (Non-GLP Study)

Test Article: [^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NC-19-0007 / 4.2.2.3-1

Species: Sprague Dawley Rat **No. of Animals / Sex:** 3/Male **Feeding Condition:** Fasted
Vehicle / Formulation: DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70) **Method of Administration:** Oral gavage **Analyte:** ^{14}C radionuclide
Assay: In duplicate by liquid scintillation counting **Dose (mg/kg):** 1 **Specific Activity:** 187 µCi/mg

Collection Interval	Mean (SD) % of Radioactive Dose		
	Urine	**Feces**	**Expired Air**
0-6 h	4.67 (0.902)	31.6 (3.67)	1.13 (0.203)
6-24 h	10.3 (2.14)		
24-48 h	5.36 (1.40)	19.8 (3.13)	0.382 (0.125)
48-72 h	1.39 (0.376)	4.77 (1.80)	0.129 (0.0607)
72-96 h	0.551 (0.0849)	1.29 (0.638)	0.0616 (0.0270)
96-120 h	0.324 (0.0552)	0.569 (0.264)	0.0425 (0.0162)
0-120 h Cumulative Total	**22.6 (2.95)**	**58.0 (1.25)**	**1.74 (0.390)**

Additional information: Following a single oral dose of [^{14}C]mavacamten to male rat, the mean total recovery of radioactivity was 95.8%. Radioactivity was eliminated with approximately 77% of the administered radioactive dose recovered by 48 hours postdose. At 120 hours postdose, approximately 7.63% (n=3) of the administered dose was recovered in the residual carcasses.
Note: Study NC-19-0026 (4.2.2.5-1) evaluated excretion after oral dosing of [^{14}C]mavacamten to rat with similar methodology to the above study. Results showed a 0-96 h excretion profile of 33.0% and 45.0% radioactivity eliminated in the urine and feces, respectively, which is generally consistent with the presented study. Expired air was not evaluated.

DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; PEG400 = polyethylene glycol 400; SD = standard deviation.

14 薬物動態試験： 排泄：胆汁中

Table 2.6.5.14.A: Mavacamten Excretion in Bile after a Single Intravenous Dose in Rat (Non-GLP Study)

		Test Article:	[^{14}C]Mavacamten ([^{14}C]MYK-461)
		Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0007 / 4.2.2.3-1
Species: BDC Sprague Dawley Rat **No. of Animals / Sex:** 4/Male **Feeding Condition:** Fasted **Vehicle / Formulation:** DMA:PEG400:30% HPβCD (5:25:70) **Method of Administration:** Intravenous bolus **Analyte:** ^{14}C radionuclide **Assay:** In duplicate by liquid scintillation counting **Dose (mg/kg):** 1 **Specific Activity:** 187 µCi/mg			
Collection Interval	**Mean (SD) % of Radioactive Dose**		
	Bile	**Feces**[a]	**Urine**
0-2 h	3.17 (2.07)	1.91 (1.36)	6.14 (2.87)
2-6 h	7.01 (1.61)		
6-24 h	16.0 (5.82)		11.8 (4.78)
24-48 h	9.55 (5.82)	3.35 (0.969)	7.93 (3.59)
48-72 h	3.87 (2.83)	1.50 (0.679)	3.44 (2.33)
72-96 h	1.54 (1.27)	0.813 (0.273)	1.72 (1.55)
0-96 h Cumulative Total	**41.1 (16.4)**	**7.59 (1.82)**	**31.0 (14.0)**
Additional information: Following a single intravenous dose of [^{14}C]mavacamten to male bile duct-cannulated rat, the mean total recovery of radioactivity was 94.0%. Radioactivity was eliminated with approximately 70% of the administered radioactive dose recovered by 48 hours postdose. By 96 hours postdose, approximately 7.91% (n=4) of the administered dose was recovered in the residual carcasses. **Note:** Study NC-19-0026 (4.2.2.5-1) evaluated excretion after intravenous dosing of [^{14}C]mavacamten to BDC rat with similar methodology to the above study. Results showed an excretion profile of 18.0%, 5.10% and 52.7% radioactivity eliminated in the bile, feces, and urine, respectively, which is generally consistent with the presented study.			

BDC = bile duct-cannulated; DMA = dimethylacetamide; HPβCD = (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin; PEG400 = polyethylene glycol 400; SD = standard deviation.

[a] Small amount of recovered dose collected in 1 animal during the 0-6 h collection interval. Amount not included in the 0-24 h total for feces. Upon collection of the feces across collection intervals, the samples were contaminated with feed. The feed was removed and added to the cage wipe collection container.

15 薬物動態試験： 薬物相互作用

Table 2.6.5.15.A: Drug-Drug Interactions – Substrate Potential by Hepatic Uptake Transporters (Non-GLP Study)

	Test Article: Mavacamten (MYK-461) **Study Number / Location in Dossier:** NC-19-0014 / 4.2.2.6-7
Study System:	In vitro: cryopreserved human hepatocytes in primary culture (3 individual donor lots); gender: male or female
Method:	Assess mavacamten as a potential substrate of human hepatic uptake transporters for OATPs, OATP1B3, OCTs and NTCP in human hepatocytes with and without an inhibitor cocktail; incubations in triplicate (3 min at 37°C); analysis by liquid scintillation counting and LC-MS/MS. OATPs: probe substrate [^{3}H]-Estrone-3-sulfate; inhibitors rifampicin and cyclosporin A OATP1B3: probe substrate [^{3}H]CCK8; inhibitors rifampicin and cyclosporin A OCTs: probe substrate [^{3}H]MPP+; inhibitor quinidine NTCP: probe substrate [^{3}H]Taurocholic acid; inhibitors rifampicin and cyclosporin A
Test Concentrations:	0.5 to 100 µM

Hepatocyte Donor Lot	**CL_{diff} (µL/min/mg protein)**	**Mean (SEM) CL_{diff} (µL/min/mg protein)**
Hu8125	13.7	12.7 (1.27)
HH1020	14.2	
Hu8117	10.2	

Additional information: In the range of 0.5 to 100 µM (137 to 27300 ng/mL), mavacamten uptake in human hepatocytes was not markedly different in the absence and the presence of the transporter inhibitor cocktail with observed ratios between the two conditions of 1.05 and 1.70, indicating that transporters are likely not involved in mavacamten uptake. Mavacamten was not identified as a substrate for major hepatic uptake transporters: OATPs, OATP1B3, OCTs and NTCP.

CCK = cholecystokinin; CL_{diff} = passive diffusion clearance; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MPP = 1-methyl-4-phenylpyridinium; NTCP = sodium taurocholate co-transporting polypeptide; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; SEM = standard error of the mean.

Table 2.6.5.15.B: Drug-Drug Interactions – Inhibition Potential of Efflux and Uptake Transporters (Non-GLP Study)

		Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
		Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0017 / 4.2.2.6-8
Study System:	In vitro: Sf9 vesicles and transfected cell lines (TransportoCells™)		
Method:	Assess mavacamten as a potential inhibitor of human efflux transporters in Sf9 membrane vesicles with and without ATP; incubations in duplicate (1-5 min at 37°C depending on probe substrate); analysis by liquid scintillation counting. Assess mavacamten as a potential inhibitor of human uptake transporters in transfected cell lines; incubations in quadruplet (5-15 min at 37°C depending on probe substrate); analysis by liquid scintillation counting.		
Test Concentrations:	0.3 to 100 µM efflux transporters; 0.03 to 400 µM uptake transporters		
Transporter:	**Probe Substrate**	**Probe Inhibitor**	**Mean (%CV) IC50 (µM)**
Efflux Transporters in Sf9 Membrane Vesicles			
P-gp	[^{3}H]-N-methyl-quinidine	PSC833	No inhibition
BSEP	[^{3}H]Taurocholate	Cyclosporin A	70.7 µM (6.0%)
BCRP	[^{3}H]-Estrone-3-sulfate	KO134	130 µM (16.8%)
Uptake Transporters in Transfected Cell Lines			
OATP1B1	[^{3}H]-Estradiol-17-β-glucuronide	Rifampicin	425 µM (16.7%)
OATP1B3	[^{3}H]-CCK8	Rifampicin	484 µM (8.3%)
OCT1	[^{14}C]-Triethylamine	Cimetidine	171 µM (7.4%)
OCT2	[^{14}C]-Metformin	Cimetidine	91.3 µM (12.1%)

ATP = adenosine triphosphate; BCRP = breast cancer resistance protein; BSEP = bile salt export pump; CCK = cholecystokinin; CV = coefficient of variation; IC50 = half-maximal inhibitory concentration; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein.

Table 2.6.5.15.C: Drug-Drug Interactions – Substrate Potential by Renal Uptake Transporters (Non-GLP Study)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)

Study Number / Location in Dossier: NCPK799 / 4.2.2.6-10

Study System: In vitro: Transfected human embryonic kidney-293 cells

Method: Assess mavacamten as a potential substrate of human kidney uptake transporters for OAT1, OAT3 and OCT2 using stably transfected HEK cells expressing individual human OAT1, OAT3 or OCT2; incubations in triplicate (2 or 5 min at 37°C); analysis by liquid scintillation counting and LC-MS/MS.

OAT1: inhibitor probenecid; probe substrate [^{3}H]para-aminohippuric acid
OAT3: inhibitor probenecid; probe substrate [^{3}H]estrone-3-sulfate
OCT2: inhibitor pyrimethamine; probe substrate [^{14}C]metformin

Incubation Time: 2 min

OAT1	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD PAH uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**
HEK-Mock	26.1 ± 1.41	23.4 ± 1.27	253.1 ± 3.09	238.7 ± 22.4	2.67 ± 0.83	3.38 ± 0.56
HEK-OAT1	17.2 ± 1.01	17.2 ± 0.75	181.3 ± 10.8	176.1 ± 10.7	80.8 ± 8.62	4.23 ± 0.23
Ratio OAT1/Mock	0.66	NA	0.72	NA	30.3	NA
Ratio -PROB/+PROB	NA	1.00	NA	1.03	NA	19.1
OAT3	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD E3S uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**
HEK-Mock	26.1 ± 1.41	23.4 ± 1.27	253.1 ± 3.09	238.7 ± 22.4	3.39 ± 0.18	3.59 ± 0.58
HEK-OAT3	21.1 ± 1.97	15.9 ± 0.87	202.8 ± 3.53	140.9 ± 14.8	69.2 ± 1.83	3.81 ± 0.31
Ratio OAT3/Mock	0.81	NA	0.80	NA	20.4	NA
Ratio -PROB/+PROB	NA	1.33	NA	1.44	NA	18.2

Table 2.6.5.15.C: Drug-Drug Interactions – Substrate Potential by Renal Uptake Transporters (Non-GLP Study) (Continued)

					Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
					Study Number / Location in Dossier:	NCPK799 / 4.2.2.6-10
Incubation Time: 2 min						
OCT2	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD MFM uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PYR**	**No inhibitor**	**With PYR**	**No inhibitor**	**With PYR**
HEK-Mock	19.1 ± 1.26	18.4 ± 1.17	195.0 ± 11.8	182.2 ± 19.3	0.77 ± 0.06	0.43 ± 0.05
HEK-OCT2	21.4 ± 2.07	18.2 ± 0.82	210.1 ± 2.49	189.4 ± 21.4	71.7 ± 6.81	3.81 ± 0.39
Ratio OCT2/Mock	1.12	NA	1.08	NA	93.3	NA
Ratio -PYR/+PYR	NA	1.18	NA	1.11	NA	18.8
Incubation Time: 5 min						
OAT1	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD PAH uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**
HEK-Mock	25.6 ± 0.82	23.2 ± 0.60	260.5 ± 3.73	232.8 ± 17.1	4.07 ± 0.51	4.23 ± 0.38
HEK-OAT1	18.0 ± 0.99	16.8 ± 1.21	180.4 ± 13.5	167.6 ± 10.7	74.1 ± 4.97	4.59 ± 0.82
Ratio OAT1/Mock	0.71	NA	0.69	NA	18.2	NA
Ratio -PROB/+PROB	NA	1.07	NA	1.08	NA	16.1

Table 2.6.5.15.C: Drug-Drug Interactions – Substrate Potential by Renal Uptake Transporters (Non-GLP Study) (Continued)

Test Article: Mavacamten (MYK-461)
Study Number / Location in Dossier: NCPK799 / 4.2.2.6-10

Incubation Time: 5 min						
OAT3	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD E3S uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**	**No inhibitor**	**With PROB**
HEK-Mock	25.6 ± 0.82	23.2 ± 0.60	260.5 ± 3.73	232.8 ± 17.1	3.67 ± 0.26	2.89 ± 0.10
HEK-OAT3	21.4 ± 0.39	16.2 ± 0.28	201.5 ± 5.82	174.8 ± 9.62	69.5 ± 8.93	4.19 ± 0.61
Ratio OAT3/Mock	0.84	NA	0.77	NA	18.9	NA
Ratio -PROB/+PROB	NA	1.32	NA	1.15	NA	16.6
OCT2	**Mean ± SD Mavacamten uptake (pmol/mg)**				**Mean ± SD MFM uptake (pmol/mg)**	
Concentration (µM)	**0.4**		**4**		**1**	
Inhibitor	**No inhibitor**	**With PYR**	**No inhibitor**	**With PYR**	**No inhibitor**	**With PYR**
HEK-Mock	19.2 ± 0.34	18.5 ± 0.37	189.1 ± 14.8	182.2 ± 12.6	0.93 ± 0.12	0.61 ± 0.08
HEK-OCT2	21.9 ± 1.50	17.1 ± 1.42	207.9 ± 5.25	191.0 ± 15.7	76.2 ± 3.13	3.98 ± 0.13
Ratio OCT2/Mock	1.14	NA	1.10	NA	81.6	NA
Ratio -PYR/+PYR	NA	1.28	NA	1.09	NA	19.1

Additional Information: Values are presented as mean ± standard deviation of triplicate sample sets; Mean uptake measured over 2 and 5 min and normalized to protein amount.

E3S = [^{3}H]estrone-3-sulfate; HEK = human embryonic kidney; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MFM = [^{14}C]metformin; NA = not applicable; PAH = [^{3}H]para-aminohippuric acid; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; PROB = probenecid; PYR = pyrimethamine; SD = standard deviation.

Table 2.6.5.15.D: Drug-Drug Interactions – Inhibition Potential of Kidney Efflux and Uptake Transporters (Non-GLP Study)

		Test Article:	Mavacamten (MYK-461)
		Study Number / Location in Dossier:	NC-19-0015 / 4.2.2.6-9
Study System:	In vitro: transfected cell lines (TransportoCells™)		
Method:	Assess mavacamten as a potential inhibitor of human efflux and uptake transporters in transfected cell lines; incubations in quadruplet (2-5 min at 37°C depending on probe substrate); analysis by liquid scintillation counting.		
Test Concentrations:	0.03 to 300 µM		
Transporter	**Probe Substrate**	**Probe Inhibitor**	**Mean (%CV) IC50 (µM)**
Efflux Transporters in Transfected Cell Lines			
MATE1	[^{14}C]Triethylamine	Cimetidine	22.6 µM (13.6%)
MATE2-K	[^{14}C]Triethylamine	Cimetidine	72.3 µM (12.1%)
Uptake Transporters in Transfected Cell Lines			
OAT1	[^{3}H]Para-aminohippurate	Diclofenac	227 µM (4.5%)
OAT3	[^{3}H]Estrone-3-sulfate	Probenecid	70.2 µM (5.9%)

CV = coefficient of variation; IC50 = half-maximal inhibitory concentration; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; OAT = organic anion transporter.

16 薬物動態試験： その他

Table 2.6.5.16.A: Apparent Permeability and P-gp Substrate Potential in Caco-2 Cells (Non-GLP Studies)

				Test Article: Mavacamten (MYK-461)		
Study Number:	NC-17-0022			NC-19-0016		
Location in Dossier:	M4.2.2.2-11			M4.2.2.2-12		
Study System:	In vitro: Caco-2 cells			In vitro: Caco-2/TC7 cells		
Method:	A-side: pH 6.5; B-side: pH 7.4; 2 h incubation in duplicate; analysis by LC-MS/MS			A-side: pH 7.4; B-side: pH 7.4; 2 h incubation in triplicate; analysis by LC-MS/MS		
Test Concentration	**Mean P_{appA-B} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)**	**Mean P_{appB-A} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)**	**Efflux Ratio[a]**	**Mean (SD) P_{appA-B} ($\times 10^{-7}$ cm/sec)[b]**	**Mean (SD) P_{appB-A} ($\times 10^{-7}$ cm/sec)**	**Efflux Ratio[a]**
1 µM (273 ng/mL)	-	-	-	113 (0.0)[c]	175 (18.0)	1.55
1 µM (273 ng/mL)[d]	-	-	-	191 (5.67)	142 (5.00)	0.742
10 µM (2733 ng/mL)	24.6	33.9	1.4	99.4 (3.71)[c]	130 (5.50)	1.31
20 µM (5467 ng/mL)	-	-	-	113 (4.13)	157 (13.1)	1.40
100 µM (27333 ng/mL)	-	-	-	131 (13.0)	143 (2.70)[c]	1.09
200 µM (54667 ng/mL)	-	-	-	156 (4.67)	152 (28.4)[c]	0.977

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; P-gp = P-glycoprotein; P_{app} = apparent permeability in the apical (A) to basolateral (B) or basolateral to apical directions.

[a] P_{appB-A} / P_{appA-B}; efflux ratios lower than 2 indicate compound is not a P-gp substrate.
[b] P_{appA-B} threshold greater than 20×10^{-7} cm/sec is considered as exhibiting high permeability.
[c] Data for n=2.
[d] Assay conducted in the presence of a specific P-gp inhibitor, PSC833 at 5 µM.