

トレシーバ注 フレックスタッチ
トレシーバ注 ペンフィル

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

	ページ
目次.....	2
図目次.....	4
表目次.....	5
略語一覧.....	6
2.6.4 薬物動態試験の概要文.....	7
2.6.4.1 まとめ.....	7
2.6.4.2 分析方法.....	9
2.6.4.2.1 血漿中及び血清中 IDeg 濃度測定法.....	9
2.6.4.2.2 IDeg 抗体測定法.....	11
2.6.4.2.3 放射能の測定.....	12
2.6.4.3 吸収.....	12
2.6.4.3.1 吸収：単回投与.....	13
2.6.4.3.1.1 マウス.....	13
2.6.4.3.1.2 ラット.....	14
2.6.4.3.1.3 ウサギ.....	14
2.6.4.3.1.4 イヌ.....	16
2.6.4.3.1.5 ブタ.....	19
2.6.4.3.2 吸収：反復投与.....	20
2.6.4.3.2.1 IDeg 抗体の発現と IDeg 曝露との関係.....	21
2.6.4.3.2.2 種間比較.....	22
2.6.4.4 分布.....	23
2.6.4.4.1 組織分布.....	24
2.6.4.4.2 胎盤通過.....	24
2.6.4.4.3 蛋白結合.....	27
2.6.4.5 代謝.....	28
2.6.4.5.1 代謝 (<i>in vitro</i>).....	29
2.6.4.5.2 代謝 (<i>in vivo</i>).....	29
2.6.4.5.2.1 循環血中代謝物.....	29
2.6.4.5.2.2 排泄物中代謝物.....	33
2.6.4.5.2.3 乳汁中代謝物.....	33
2.6.4.5.3 酵素誘導.....	34
2.6.4.5.4 酵素阻害.....	34

2.6.4.6	排泄.....	34
2.6.4.6.1	尿、糞及び胆汁中排泄.....	34
2.6.4.6.2	乳汁中排泄.....	35
2.6.4.7	薬物動態学的相互作用.....	36
2.6.4.8	その他の薬物動態試験.....	37
2.6.4.9	考察及び結論.....	38
2.6.4.9.1	考察.....	38
2.6.4.9.2	結論.....	39
2.6.4.10	参考文献.....	40

図目次

	ページ
図 2.6. 4-1	放射能標識 IDeg の化学構造式 7
図 2.6. 4-2	イヌにおける IDeg (2.4 nmol/kg) の単回 i.v.投与時及び単回 s.c.投与時の血清中濃度-時間推移、平均±SD、n=8 (試験番号 211057) 17
図 2.6. 4-3	IDeg の 1 日 1 回反復 s.c.投与時における定常状態での循環血中曝露 (AUC _{0-24h}) と投与量の関係 22
図 2.6. 4-4	IDeg の単回 s.c.投与時における全身クリアランス (CL/f) と体重の関係 23
図 2.6. 4-5	凍結保存肝細胞を用いた [³ H]-IDeg (500 nmol/L) 4 時間インキュベート時の代表的ラジオクロマトグラム 30
図 2.6. 4-6	[³ H]-IDeg の s.c.投与時におけるラット血漿中及びイヌ血清中代謝物プロファイル 31
図 2.6. 4-7	[³ H]-IDeg の s.c.投与時におけるラット血漿中代謝物プロファイル 32
図 2.6. 4-8	[³ H]-IDeg の推定代謝経路 33
図 2.6. 4-9	正常ラット (左図) 及び胆管カニュレーション施行ラット (右図) における [³ H]-IDeg の s.c.投与時の排泄放射能累積回収率 35
図 2.6. 4-10	ラットにおける乳汁中及び血漿中放射能濃度 36

表目次

ページ

表 2.6. 4-1	IDeg の反復 s.c.投与時及び単回 i.v.投与時における用量補正薬物動態パラメータ (1 nmol/kg) の種間比較.....	8
表 2.6. 4-2	各動物種及びヒトにおける ELISA 法推定 LLOQ	10
表 2.6. 4-3	各種化合物による IDeg 測定 ELISA 法に対する妨害の概要	11
表 2.6. 4-4	非臨床動物種及びヒト試料の長期安定性	11
表 2.6. 4-5	非臨床試験動物種における放射能の LLOQ.....	12
表 2.6. 4-6	マウスにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ.....	14
表 2.6. 4-7	ラットにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ.....	15
表 2.6. 4-8	ウサギにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ.....	16
表 2.6. 4-9	イヌにおける IDeg の単回投与時薬物動態パラメータ.....	17
表 2.6. 4-10	ブタにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ.....	19
表 2.6. 4-11	各種動物における IDeg の反復 s.c.投与時の曝露及び累積係数	20
表 2.6. 4-12	組織分布試験一覧 (QWBA)	23
表 2.6. 4-13	雄性ラットに対する [^3H]-IDeg の s.c.投与時における組織／血漿中放射能濃度比	25
表 2.6. 4-14	雌性ラットに対する [^{125}I]-IDeg の i.v.投与時における組織／血漿中放射能濃度比	26
表 2.6. 4-15	Zucker <i>fa/fa</i> ラットに対する [^{125}I]-IDeg の i.v.投与時における組織／血漿中放射能濃度比.....	27
表 2.6. 4-16	各種動物由来血清アルブミンに対する IDeg の結合能 (K_d を指標)	28
表 2.6. 4-17	[^3H]-IDeg の s.c.投与時の排泄放射能回収率.....	35
表 2.6. 4-18	[^{125}I]-IDeg (0.8 nmol/L) の薬物相互作用	36
表 2.6. 4-19	[^{125}I]-IDeg (25 pmol/L) の薬物相互作用	37

略語一覧

AUC	: Area under the curve [濃度－時間曲線下面積 (特記ない限り AUC_{0-inf})]
CL	: Body clearance (クリアランス)
C_{max}	: Maximum plasma/serum concentration (最高血漿／血清中濃度)
C_0	: Drug concentration at time “zero” (初期血中濃度)
CYP	: Cytochrome P-450 (チトクローム P450)
EDTA	: Ethylenediamine tetra-acetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
ELISA	: Enzyme linked immune sorbent assay (酵素免疫吸着測定法)
HSA	: Human serum albumin (ヒト血清アルブミン)
i.v.	: Intravenous (静脈内)
IDeg	: Insulin degludec (インスリン デグルデク)
K_d	: Dissociation constant (解離定数)
LLOQ	: Lower limit of quantification (最低定量限界)
LOCI	: Luminescent oxygen channeling immunoassay
RIA	: Radio immunoassay (ラジオイムノアッセイ)
s.c.	: subcutaneous (皮下)
SD	: Standard deviation (標準偏差)
SPR	: Surface plasma resonance (表面プラスモン共鳴測定)
$t_{1/2}$	: Plasma/serum half-life (半減期)
TK	: Toxicokinetics (トキシコキネティクス)
t_{max}	: Time of maximal concentration (最高濃度到達時間)
V_z	: Volume of distribution (based on the terminal phase of the plasma concentration time curve) [分布容積 (血漿中濃度－時間曲線の終末相から求めた)]

非臨床試験使用動物種及びヒトでの i.v. 及び s.c. 投与時における IDeg の薬物動態学的パラメータの概略を [表 2.6.4-1](#) に示す。すべての動物種及びヒトで薬物動態の線形性が示されたことから、用量補正した曝露データを表中に示した。

表 2.6. 4-1 IDeg の反復 s.c.投与時及び単回 i.v.投与時における用量補正薬物動態パラメータ（1 nmol/kg）の種間比較

Species	s.c. administration (steady-state)					i.v. administration (single dose)		
	C _{max} (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC _{0-24h} (h×nmol/L)	Bioavailability (%)	t _{1/2} (h)	t _{1/2} (h)	CL (L/h/kg)	Vz (L/kg)
Mouse ^a	1.7	1	4.5	- ^g	3.0	-	-	-
Rat ^b	3.4	3	22	>70	3.1	1.5	0.16	0.35
Rabbit ^c	5.8	6	122	-	9.3	-	-	-
Dog ^d	2.2	4-7	29	>70	5.6	3.0	0.042	0.17
Pig ^e	1.7	1-2	12	60-80	5.5	1.0	0.052	0.079
Human ^f	2.1	8	38	-	25	-	-	-

Mean of male and female (t_{max} range). For further details see 2.6.4.3

a – Study No.: s.c.: 209388 (4-week), 209479 (13-week)

b – Study No.: s.c.: 206315 (26-week), 206539 (52-week), i.v.: 204316, 206016

c – Study No.: s.c.: 206072 (2-week)

d – Study No.: s.c.: 205238 (4-week), 206314 (26-week), i.v.: 204317, flmn071102, 207374, 206015, 211057

e – Study No.: s.c./i.v.: 204342 (all values following single-dose, AUC_{0-24h} = AUC)

f – Trial ID: s.c.: NN1250-1993 (1-week)

g – Data not available

IDeg の薬物動態は用量比例的であり、性差及び経時的変化は認められなかった。1 日 1 回反復投与時における体循環への累積は予想した通り概して低かった。IDeg は s.c.投与部位から良好に吸収され、ラット、イヌ及びブタでの概略の生物学的利用率は約 60%以上であった（表 2.6. 4-1）。IDeg は s.c.投与時に皮下組織中でマルチヘキサマーを形成するために、吸収過程が延長し、その結果、消失は吸収速度に律速される。この現象は終末相半減期（以下、t_{1/2}）が i.v.投与時に比較して s.c.投与時に延長することから示され、全動物種で認められた。

IDeg の s.c.投与時に非臨床動物種では血漿中又は血清中最高濃度（以下、C_{max}）は投与後 1～7 時間 [最高濃度到達時間（以下、t_{max}）] に認められた。マウス、ラット及びブタでは t_{max} は早く、対してウサギ及びイヌでは C_{max} に達するのにより長い時間を要した。ヒトの t_{max} は投与後約 8 時間に観察された。用量で補正した全身曝露（AUC_{0-24h}）はラット、イヌ及びヒトで類似していたのに対してマウスでは数倍低く、ウサギでは他と比べ数倍高かった。s.c.投与時の循環血の平均終末相 t_{1/2} は約 3～9 時間の範囲であり、マウス＝ラット＜ブタ＝イヌ＜ウサギの順であった。また、ヒトでの t_{1/2} は 25 時間であった。

i.v.投与時において、みかけの分布容積は比較的小さかった。全身クリアランスは低く、ラット、イヌ、ブタ及びヒトでは同程度であった、このことは、主に IDeg の大部分が血漿中蛋白質に結合してい

ることによるものと考えられる。ラット、イヌ及びブタでの i.v.投与時の平均終末相 $t_{1/2}$ は約 1~3 時間の範囲であり、ヒトインスリンの i.v.投与時の $t_{1/2}$ が 15 分以内であるのに比べ明らかな延長がみられた¹。

マウス、ラット及びイヌで 1 日 1 回反復 s.c.投与時において体循環への累積は全くないか又は軽度であった。ヒトでの 1 日 1 回反復 s.c.投与時の累積係数は約 2 であった (NN1250-1993 試験) が、これはヒトで $t_{1/2}$ が長いことに一致するものであった。少数の動物でのみ IDeg 抗体の発現がみられた

(Module 2.6.6.9.1 参照)。抗体陽性動物と抗体陰性動物での曝露に差が認められなかったことから、抗体の薬物動態への影響は無視しうるものであるとみなされた。

IDeg の消失は放射能標識体を用いて検討した。s.c.投与後、吸収された IDeg は主に血清コンパートメントに分布しており、他の組織への分布は限定的であった。IDeg が血清アルブミンに対し高い結合能を有していることは、血清コンパートメントへの分布を説明するものである。

血漿及び血清中には IDeg 未変化体が主たる成分として循環していた。しかしながら、後期測定時点ではトリチウム水が主たる成分であった。また 2~3 種の少量の代謝物が存在していた。放射能標識 IDeg の取り込みは主要な消失器官である腎及び肝で認められた。このことは腎細胞及び肝細胞に受容体介在性取り込みにより分布を示すヒトインスリンと類似するものであった²。取り込みの後、IDeg は多種の代謝物に代謝され、続いて尿、胆汁及び糞中に排泄される。放射能標識 IDeg は主としてトリチウム水として、多数の少量の代謝物とともに排泄され、IDeg は広範な分解を受けることが明らかとなった。

IDeg の *in vitro* での代謝を、ヒトカテプシン D (ヒトインスリン分解酵素) ならびにヒト及び IDeg の安全性試験に用いた各種動物由来の肝細胞を用いた試験により検討し評価した。ヒトカテプシン D 存在下でのインキュベーションにおいて、IDeg 及びヒトインスリンの双方で同一の初期代謝物が同定された。肝細胞を用いた試験では、IDeg 存在下でのインキュベーションにおいてすべての動物種で多数の代謝物が形成された。ヒト肝細胞での代謝物はすべて動物由来肝細胞でも認められた。

以上の結果、ヒトインスリンと IDeg の代謝クリアランスの経路は共通しており、ヒト特有の代謝物が生じる可能性は低いと考えられた。また、ヒトインスリンと同様に、IDeg は肝細胞中に取り込まれた後、酵素的に分解されることが確認された。

2.6.4.2 分析方法

2.6.4.2.1 血漿中及び血清中 IDeg 濃度測定法

IDeg は非臨床安全性試験及び臨床試験ともに特異的サンドイッチ酵素免疫吸着測定法 (以下、ELISA) を用いて測定した。

マイクロタイタープレートにコーティングした捕獲抗体は、ヒトインスリン特異抗体 () であり、ビオチン標識した検出抗体は IDeg 特異抗体 () を用いた。

バリデーションの結果、本アッセイ法は血清及び血漿試料中 IDeg の分析に関して回収率、線形性、真度、精度及び感度の点において保証されている。

非臨床試験において使用するために、本アッセイ法は、マウス (Module 4.2.2.1、試験番号 209448)、ラット (Module 4.2.2.1、試験番号 206078)、ウサギ (Module 4.2.2.1、試験番号 206372) 及びイヌ (Module 4.2.2.1、試験番号 206317) の各血清ならびにラット EDTA 血漿及びイヌ EDTA 血漿 (Module 4.2.2.1、試験番号 205289) についてそれぞれバリデーションが実施された。臨床試験での使用のため、本法はヒト血清についてノボ ノルディスク社でバリデーション (Module 5.3.1.4、試験番号 205498) を実施した後、XXXXXXXXXX (現 XXXXXX、XXXXXXXXXX (Module 5.3.1.4、試験番号 206373))、XXXXXXXXXX (Module 5.3.1.4、試験番号 XXXXXX444469CH-EB 及び XXXXXX29613))、XXXXXXXXXX、(XXXXXXXXXX (Module 5.3.1.4、試験番号 XXXXXX81207)) 及び XXXXXXXXXX (XXXXXXXXXX (Module 5.3.1.4、試験番号 XXXXXX32462) の各 CRO でバリデーションを実施した。

試料中の IDeg 濃度は、各測定試料セット中に含まれる一連の既知試料 (キャリブレータ) による検量線に内挿することで決定した。キャリブレータは、ラット血清、ラット血漿及びイヌ血漿を除き測定試料と同じマトリックスを使用した。これらの動物種では動物血清又は血漿の代わりにヒト血清又は血漿を使用し、また、イムノアッセイの回収率を適切な範囲 (85~115%) に収めるためにヒト血漿又は血清で希釈した。希釈倍率はそれぞれ、ラット血清試料では XXXXXX 倍 (ヒト血清)、ラット血漿試料では XXXXXX 倍 (ヒト血漿)、イヌ血漿では XXXXXX 倍 (ヒト血漿) とした。ラット血清、ラット血漿、イヌ血漿の各試料では希釈のために本アッセイ法の最低定量限界 (以下、LLOQ) は他の動物種試料のそれよりも高くなった ([表 2.6.4-2](#))。

表 2.6.4-2 各動物種及びヒトにおける ELISA 法推定 LLOQ

Animal	Lower Limit of Quantification
Mouse serum	37.8 pmol/L
Rat serum	320 pmol/L
Rat plasma	63.5 pmol/L
Rabbit serum	20 pmol/L
Dog serum	27 pmol/L
Dog plasma	19.6 pmol/L
Human serum	32 or 20 pmol/L ^a

a – The original validation at Novo Nordisk showed an LLOQ of 32 pmol/L, later this was updated to approximately 20 pmol/L

本法につき、インスリン グラルギン、インスリン デテミル、インスリン アスパルト及びヒトインスリンとの間に交差反応性は認められなかった (Module 4.2.2.1、試験番号 205289)。

各種化合物による ELISA 測定の妨害の程度を検討した ([表 2.6.4-3](#))、概して妨害は認められなかった。それに対して重度の溶血試料では IDeg 濃度の決定について保証できないという結果が得られた (Module 4.2.2.1、試験番号 205289 及び Module 5.3.1.4、試験番号 205498)。

表 2.6. 4-3 各種化合物による IDeg 測定 ELISA 法に対する妨害の概要

Compound tested	Conclusion	Study number
Human insulin	No interference up to a concentration of 5000 pmol/L	205289
Insulin aspart	No interference up to a concentration of 5000 pmol/L	205289
Insulin lispro	No interference up to a concentration of 5000 pmol/L	208117
Insulin glargine	No interference up to a concentration of 5000 pmol/L	205289
Insulin detemir	No interference up to a concentration of 5000 pmol/L	205289

血清及び血漿試料は表 2.6. 4-4 に示す期間中、IDeg 濃度の低下を示すことなく、凍結保存が可能であった。

表 2.6. 4-4 非臨床動物種及びヒト試料の長期安定性

Species	Matrix	Storage stability	Storage temperature	Study number
Mouse	Serum	months	-20°C	210109
Rat	EDTA plasma	months	-20°C	206452
Rat	Serum	months	-20°C	205532
Dog	EDTA plasma	months	-20°C	206452
Dog	Serum	months	-20°C	206453
Rabbit	Serum	months	-20°C	206454
Human	Serum	months	-20°C	205532

さらに、ラット（Module 4.2.3.2、試験番号 204316）、イヌ（Module 4.2.3.2、試験番号 204317 及び Module 4.2.2.2、試験番号 flmn071102）、ブタ（Module 4.2.2.2、試験番号 204342）の薬物動態試験（非 GLP）ではバリデーション済みでない ELISA 法又は、luminescent oxygen channelling immunoassay（LOCI）を用いた。使用した抗体は上述のバリデーション済みの ELISA 法と同一である。これらのアッセイ法での LLOQ は 35 pmol/L であった。

2.6.4.2.2 IDeg 抗体測定法

非臨床試験における IDeg に対する抗体産生を放射能標識 (^{125}I) IDeg を用いてバリデーション済みのラジオイムノアッセイ（RIA）法により測定した。血清試料を放射能標識 (^{125}I) IDeg と混合し一晩インキュベートした後、抗体と結合した放射能標識 IDeg を、ポリエチレングリコールを用いて沈殿させた。沈殿物中の放射能（B）の総放射能（T）に対する割合（%B/T）は試料中の IDeg 抗体量に比例する。

本アッセイ法は、ラット血清及びイヌ血清（Module 4.2.2.1、試験番号 204411 及び 206531 参照）に対して推奨ガイドライン³に従いバリデーションを実施した。本アッセイ法の感度はラット血清及びイ

ヌ血清中でともに 50 ng/mL であり、アッセイ内及びアッセイ間の精度は両動物種ともに 15%以下と規定した。

試料を IDeg 抗体陽性又は陰性に分類するための本アッセイ法でのカットオフ値は、投与前試料の平均値+1.645×標準偏差（以下、SD）の式に基づき算出した。カットオフ値を超える試料はさらに確認試験を実施し、過剰量の非標識 IDeg 存在下（B）及び非存在下（A）で測定した。この 2 試料間の差（A－B）が測定内変動を超える差であった場合に当該試料を抗体陽性に分類した。本法の感度を各種薬物濃度で検討し、各非臨床試験で IDeg による抗体測定に対する妨害の程度を評価した。抗体産生がみられた場合、薬物動態学的データ及び薬力学的データに対する抗体反応の相関を検討することにより、抗体による中和作用の可能性について評価した（Module 2.6.6.9.1 参照）。

2.6.4.2.3 放射能の測定

[¹²⁵I]-及び[³H]-IDeg 投与後の各種試料（血漿、血清、尿、胆汁、糞、乳汁及び組織）中の放射能を定量した（試験番号 206529、207374、207366、204209、205521、206530 及び 210229）。試験実施施設における信頼できる LLOQ を表 2.6. 4-5 に示す。

表 2.6. 4-5 非臨床試験動物種における放射能の LLOQ

Species	Radio-Isotope	Matrix	Measurement method	LLOQ	Study number
Rat	³ H	Plasma	LSC	Twice the mean background	206529
Dog	³ H	Serum	LSC	Twice the mean background	207374
Rat	³ H	Plasma	LSC	0.002 pmol equiv/g	207366
		Tissue	QWBA	0.433 pmol equiv/g	
Rat	¹²⁵ I	Plasma	LSC	0.015 pmol equiv/g*	204209
		Tissue	QWBA	0.149 pmol equiv/g	
Rat	¹²⁵ I	Plasma	LSC	0.033 pmol equiv/g*	205521
		Tissue	QWBA	0.089 pmol equiv/g	
Rat	³ H	Urine/ Feces/ Bile	LSC	Twice the mean background	206530
Rat	³ H	Plasma/ Milk	LSC	twice the mean background	210229

LSC: Liquid Scintillation Counting

QWBA: Quantitative Whole Body Analysis

*: Limit of detection

2.6.4.3 吸収

IDeg の薬物動態は臨床投与経路であり、非臨床毒性試験における投与経路であることから、主に s.c. 投与時において評価した。さらに、i.v.投与時の薬物動態をラット、イヌ及びブタにおいて評価した（表 2.6. 4-1）。

s.c.投与時では IDeg 及び █████ を含む処方を使用した。非臨床試験で用いた処方中の █████ の含量は様々であるが、IDeg 6 分子あたり █、█ 又は █████ (████/hexamer) の範囲であった。概して、████

████████████████████ しかしながら、████████████████████

IDeg の毒性試験において Sprague-Dawley 系ラット及び Wistar 系ラットを使用した。しかしながら、被験物質の全身曝露に大きな差がみられなかったことから、薬物動態データの要約に当たっては系統の差異は考慮しないこととした。

ラット、イヌ、ブタ及びヒトにおける IDeg の循環血への吸収を検討した結果、s.c.投与時の生物学的利用率は高く、60%以上であった。検討したすべての動物種の IDeg の s.c.投与時の血漿中 C_{max} は投与後 1～7 時間に認められた。検討した動物種では用量依存的又は経時的な変化はなく、性差も認められなかった。

[3H]-IDeg 投与時のラット血漿中 (Module 2.6.5.3.A、試験番号 206529) 及びイヌ血漿中 (Module 2.6.5.3.C、試験番号 207374) の総放射能を測定した結果、IDeg と類似した t_{max} を示したのに対し、終末相 $t_{1/2}$ はラット (23～28 時間) 及びイヌ (14～15 時間) とともに ELISA で測定した IDeg (ラットで 3.1 時間及びイヌで 5.6 時間) に比べ長かった。イヌでは放射能の CL 及び V_z はそれぞれ IDeg の約 3 倍及び 2 倍であり、放射能は親化合物より相当程度広く分布し、緩徐に消失することが示唆された。ラット血漿の凍結乾燥時に放射能が消失すること (Module 4.2.2.2、試験番号 206529) と合わせて、放射能の血漿中 $t_{1/2}$ が長いことから、特に後期の測定時点において放射能は血漿中ではトリチウム水の形で存在することが示された。

2.6.4.3.1 吸収：単回投与

2.6.4.3.1.1 マウス

マウスへの s.c.投与時において、 t_{max} は概して投与後 1 時間にみられた (Module 2.6.5.4.A、試験番号 209388 及び Module 2.6.5.4.B、試験番号 209479)。全身曝露 (C_{max} 及び AUC) は用量比例的に増大した。単回 s.c.投与時の終末相 $t_{1/2}$ は約 3 時間であった。マウスにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータを [表 2.6.4-6](#) に示す。

表 2.6. 4-6 マウスにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ

Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C _{max} (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC ₀₋₂₄ (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)
209388						
25	M / 12	s.c.	25.0	1	85.1	NR
	F / 12	s.c.	24.4	1	82.2	3.2
150	M / 12	s.c.	151	1	658	3.3
	F / 12	s.c.	135	3	624	2.8
250	M / 12	s.c.	301	1	1380	2.7
	F / 12	s.c.	248	1	1160	3.0
209479						
15	M / 12	s.c.	24.4	1	55.8	4.3
	F / 12	s.c.	21.3	1	58.8 ^a	1.4
40	M / 12	s.c.	54.2	1	188	NR
	F / 12	s.c.	55.0	1	175	NR
75	M / 12	s.c.	98.6	1	312	3.4
	F / 12	s.c.	86.8	1	265	NR

PK parameters on Day 1 in repeated dose toxicity study were calculated by non-compartmental analysis using composite mean serum concentration versus time profiles (n=2 animals/timepoint/sex/group for study 209388 and study 209479)

NR: R² <0.85 for linear regression, so t_{1/2} not reported.

a – Based on AUC_{0-12h} as 24 h sample was not available

2.6.4.3.1.2 ラット

ラットへの s.c.投与時では、t_{max} は概して投与後 0.5～3 時間にみられた (Module 2.6.5.4.C、試験番号 204316、Module 2.6.5.4.D、試験番号 205239、Module 2.6.5.4.E、試験番号 206538、Module 2.6.5.4.F、試験番号 206315 及び Module 2.6.5.4.G、試験番号 206539)。全身曝露 (C_{max} 及び AUC) は用量比例的に増大した。単回 s.c.投与時の終末相 t_{1/2} は s.c.投与時では約 3～4 時間であり、i.v.投与時では 1～2 時間であった (Module 2.6.5.3.E、試験番号 204342 及び 206016)。全身 CL は約 0.1～0.2 L/h/kg であり、V_Z は 0.2～0.6 L/kg であった。s.c.投与時の生物学的利用率は >70% であった。ラットにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータを [表 2.6. 4-7](#) に示す。

2.6.4.3.1.3 ウサギ

未交配及び交配雌性ウサギへの s.c.投与時では、t_{max} は概して投与後 6 時間にみられ、平均の t_{1/2} は 8～11 時間であった (Module 2.6.5.4.M、試験番号 206072 及び Module 2.6.5.4.N、試験番号 206073)。全身曝露 (C_{max} 及び AUC) は用量比例的に増大した。妊娠動物及び非妊娠動物間に大きな差はみられなかった。ウサギにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータを [表 2.6. 4-8](#) に示す。

表 2.6. 4-7 ラットにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C ₀ (i.v.) or C _{max} (s.c.) (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h× nmol/L)	t _{1/2} (h)	Vz (L/kg)	CL (i.v.) or CL/f (s.c.) (L/h/kg)	Bioavailab ility (%) ^b
204316 7.5	M / 2 F / 2	i.v. i.v.	51.1 51.2	- -	69.3 69.5	1.5 1.8	0.24 0.29	0.11 0.11	- -
206016 6	M / 9* F / 9* M / 9** F / 9**	i.v. i.v. i.v. i.v.	- - - -	- - - -	28.7 31.1 26.0 27.5	1.9 1.2 1.5 1.1	0.58 0.34 0.50 0.35	0.21 0.19 0.23 0.22	- - - -
204316 37.5	M / 8 F / 8	s.c. s.c.	66.6 92.5	0.5 2	361 388	3.1 3.0	- -	0.104 0.097	104 112
75	M / 8 F / 8	s.c. s.c.	106 991	2 1.5	542 917	3.2 3.2	- -	0.138 0.082	78 132
150	M / 8 F / 8	s.c. s.c.	147 594	2 1	960 1850	3.9 3.4	- -	0.156 0.081	69 133
300	M / 8 F / 8	s.c. s.c.	842 927	1 1	3980 5360	2.9 3.5	- -	0.075 0.056	143 193
205239 25	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	35.5 43.2	1 1	199 230	3.5 3.7	- -	0.126 0.108	- -
150	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	285 295	3 3	1610 1720	3.2 2.9	- -	0.093 0.087	- -
250	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	380 443	3 3	2450 2910	2.9 2.7	- -	0.102 0.086	- -
206538 100	M / 12 F / 12	s.c. s.c.	235 204	3 3	1260 1160	2.7 3.0	- -	- -	- -
200	M / 12 F / 12	s.c. s.c.	510 586	3 3	2530 2760	2.8 2.6	- -	- -	- -
206315 20	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	38.7 46.2	2 2	207 226	4.0 3.8	- -	- -	- -
50	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	110 144	2 2	488 505	3.2 3.5	- -	- -	- -
125	M / 9 F / 9	s.c. s.c.	310 292	3 3	1480 1460	3.1 2.9	- -	- -	- -

PK parameters were calculated by Non-compartment analysis using composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 (i.v.) or n=1 (s.c.) animal(s)/timepoint/sex/group for study 204316, n=3 animals/point/sex/group for study 206016, 205239, 206538, 206315 and n=4 animals/timepoint/sex/group for study 206539)

- :Not reported *: , **: 

a : Doses lowered on day 76 and again on day 225 due to hypoglycaemia.

b: Calculated based on dose normalized AUC following to i.v. and s.c administration

c: AUC_{0-9 h}

表 2.6. 4-7 ラットにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ（続き）

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C ₀ (i.v.) or C _{max} (s.c.) (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)	V _z (L/kg)	CL (i.v.) or CL/f (s.c.) (L/h/kg)	Bioavailabil ity (%) ^b
206539									
20	M / 20	s.c.	56.6	1	248	2.6	-	-	-
	F / 20	s.c.	46.6	1	224 ^c	NR	-	-	-
65/50/40a	M / 20	s.c.	179	3	859	2.6	-	-	-
	F / 20	s.c.	178	1	974	2.6	-	-	-
100/80/60 ^a	M / 20	s.c.	233	3	1290	2.9	-	-	-
	F / 20	s.c.	241	3	1310	2.7	-	-	-

PK parameters were calculated by Non-compartment analysis using composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 (i.v.) or n=1 (s.c.) animal/timepoint/sex/group for study 204316, n=3 animals/point/sex/group for study 206016, 205239, 206538, 206315 and n=4 animals/timepoint/sex/group for study 206539)

- :Not reported *: ■■■/insulin degludec hexamer formulation, **: ■■■/insulin degludec hexamer formulation, (Module 2.6.5.3.F)

a : Doses lowered on day 76 and again on day 225 due to hypoglycaemia.

b: Calculated based on dose normalized AUC following to i.v. and s.c administration

c: AUC_{0-9 h}

表 2.6. 4-8 ウサギにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C _{max} (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)
206072						
25	F / 4	s.c.	112	6	1940	9.0
30	F / 4	s.c.	150	6	2940	11
50	F / 4	s.c.	255	6	4150	8.0
75	F / 4	s.c.	344	6	6790	10
206073						
5	F / 6	s.c.	20.1	6	301	7.2
15	F / 6	s.c.	78.2	4.5	1010	4.9
25	F / 6	s.c.	122	6	1420	5.5

Mean except for t_{max} (median), PK parameters were calculated by non-compartmental analysis

2.6.4.3.1.4 イヌ

イヌへの s.c.投与時では、t_{max} は概して投与後 1.5～8 時間にみられた（Module 2.6.5.3.D、試験番号 211057、Module 2.6.5.4.O、試験番号 204317、Module 2.6.5.4.P、試験番号 204317、Module 2.6.5.4.Q、試験番号 205238、Module 2.6.5.4.R、試験番号 206314、Module 2.6.5.4.S、試験番号 206015）。全身曝露（C_{max} 及び AUC）は用量比例的に増大した。単回 s.c.投与時の終末相 t_{1/2} は s.c.投与時では 4～9 時間であり、i.v.投与時では 2～4 時間であった（Module 2.6.5.3.F、試験番号 flmn071102、206015、207374、

204317 及び 211057)。全身 CL は約 0.02~0.04 L/h/kg であり、 V_z は 0.07~0.21 L/kg であった。s.c.投与時の生物学的利用率は>60%であった。イヌにおける IDeg の i.v.投与時及び s.c.投与時の血清中濃度 - 時間推移を [図 2.6. 4-2](#) に、単回投与時の薬物動態パラメータを [表 2.6. 4-9](#) に示す。

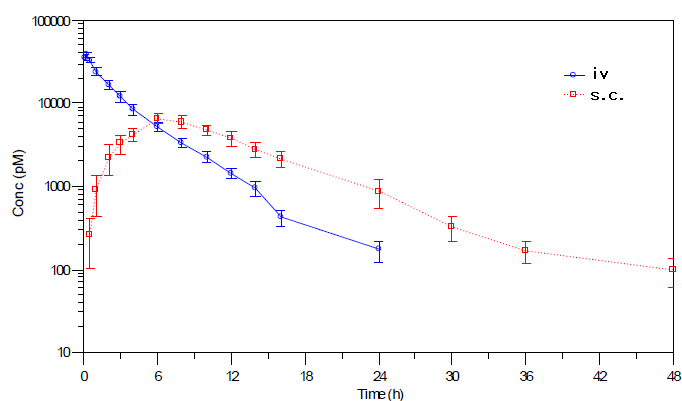


図 2.6. 4-2 イヌにおける IDeg (2.4 nmol/kg) の単回 i.v.投与時及び単回 s.c.投与時の血清中濃度 - 時間推移、平均 $\pm$ SD、n=8 (試験番号 211057)

表 2.6. 4-9 イヌにおける IDeg の単回投与時薬物動態パラメータ

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C_0 (i.v.) or C_{max} (s.c.) (nmol/L)	t_{max} (h)	AUC ($h \times nmol/L$)	$t_{1/2}$ (h)	V_z (L/kg)	CL (L/h/kg)	Bioavailability (%)
Flmn071102									
1 ^a	M / 4	i.v.	-		56.1	2.9	0.078	0.018	-
1 ^b	M / 4	i.v.	-		57.6	2.8	0.070	0.017	-
211057									
0.24	M / 8	i.v.	4.52	-	11.5	3.7	0.116	0.0218	
2.4	M / 8	i.v.	40.0	-	115	3.5	0.109	0.0217	
2.4	M / 8	s.c.	6.62	6-8 ^c	80.8	5.3	-	-	62-80 ^c
204317									
1.5	M / 1	i.v.	20.3	-	50.3	2.9	0.13	0.03	-
	F / 1	i.v.	17.5	-	34.2	2.0	0.13	0.04	-
1.5	M / 1	s.c.	4.08	5	39.6	4.5	-	-	79
	F / 1	s.c.	4.39	2	35.6	4.1	-	-	104
3	M / 1	s.c.	5.96	5	77.9	5.1	-	-	77
	F / 1	s.c.	4.26	2	50.4	5.0	-	-	73
6.0	M / 1	s.c.	28.3	5	179	3.7	-	-	89
	F / 1	s.c.	15.9	5	140	4.0	-	-	102
12	M / 1	s.c.	30.7	2	371	7.1	-	-	92
	F / 1	s.c.	43.7	1.5	240	3.3	-	-	87
30.0 [#]	M / 1	s.c.	0.916	2	14.8	9.4	-	-	1.5
	F / 1	s.c.	42.3	5	814	10	-	-	81

Mean, PK parameters were calculated by non-compartmental analysis

- :Not reported

[#]: Male dog was misdosed.

a: XXXXXXXXXX formulation b: XXXXXXXXXX insulin degludec hexamers c: Range

表 2.6. 4-9 イヌにおける IDeg の単回投与時薬物動態パラメータ (続き)

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C ₀ (i.v.) or C _{max} (s.c.) (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)	V _z (L/kg)	CL (i.v.) or CL/f (s.c.) (L/h/kg)	Bioavailability (%)
204317									
12	M / 2+ F / 2	s.c.	39.7	4	404	4.5	-	-	-
18	M / 2+ F / 2	s.c.	26.6	4	423	13	-	-	-
24	M / 2+ F / 2	s.c.	30.7	4	515	12	-	-	-
207374									
4	M / 3	i.v.	40.1	-	95.1	3.4	0.21	0.043	
4	M / 3	s.c.	5.76	8	68.2	4.0	NA	NA	74
205238									
4	M / 3	s.c.	5.62	4	60.7	4.3	-	0.069	-
	F / 3	s.c.	4.44	2	35.8	3.7	-	0.114	-
8	M / 3	s.c.	7.88	6	125	6.9	-	0.064	-
	F / 3	s.c.	9.53	3	93.2	5.1	-	0.087	-
12	M / 3	s.c.	10.3	3	163	8.8	-	0.074	-
	F / 3	s.c.	14.9	6	200	4.5	-	0.06	-
206314									
4	M / 4	s.c.	6.83	5.3	71.3	-	-	0.055	-
	F / 4	s.c.	6.67	6.8	77.4	-	-	0.05	-
8	M / 4	s.c.	12.0	6	130	-	-	0.057	-
	F / 4	s.c.	9.67	6.8	118	-	-	0.063	-
12	M / 4	s.c.	10.9	6	139	-	-	0.071	-
	F / 4	s.c.	11.8	8	182	-	-	0.062	-
206015									
2	M / 3	i.v.	8.81	-	27.4	3.3	0.24	0.074	-
	F / 3	i.v.	12.0	-	25.3	1.9	0.21	0.079	-
4	M / 3	i.v.	20.0	-	46.1	2.4	0.30	0.088	-
	F / 3	i.v.	15.4	-	37.8	2.6	0.48	0.14	-
8	M / 3	i.v.	55.1	-	129	3.3	0.30	0.063	-
	F / 3	i.v.	26.8	-	73.3	2.7	0.50	0.13	-
12	M / 3	i.v.	50.1	-	180	3.2	0.31	0.068	-
	F / 3	i.v.	65.4	-	149	3.2	0.38	0.082	-
2	M / 3*	s.c.	5.36	3	38.3 ^d	3.7	-	-	-
	F / 3*	s.c.	5.34	3	40.3 ^d	3.5	-	-	-
	M / 3**	s.c.	4.43	4	47.1 ^d	3.8	-	-	-
	F / 3**	s.c.	4.65	5	48.7 ^d	3.5	-	-	-
4	M / 3*	s.c.	7.89	5	70.0 ^d	3.5	-	-	-
	F / 3*	s.c.	8.05	4	77.3 ^d	3.7	-	-	-
	M / 3**	s.c.	6.93	6	72.6 ^d	4.2	-	-	-
	F / 3**	s.c.	9.09	4	90.6 ^d	4.8	-	-	-

Mean, PK parameters were calculated by non-compartmental analysis

-:Not reported

d: AUC_{0-24h}, *: XXXXXXXXXX/insulin degludec hexamer Formulation, **: XXXXXXXXXX/insulin degludec hexamer Formulation

表 2.6. 4-9 イヌにおける IDeg の単回投与時薬物動態パラメータ（続き）

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C ₀ (i.v.) or C _{max} (s.c.) (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)	V _z /f (L/kg)	CL/f (L/h/kg)	Bioavailability (%)
206015									
8	M / 3*	s.c.	14.7	4	168 ^d	4.4	-	-	-
	F / 3*	s.c.	11.4	5	129 ^d	4.9	-	-	-
	M / 3**	s.c.	9.56	6	128 ^d	6.4	-	-	-
	F / 3**	s.c.	15.2	4	133 ^d	4.8	-	-	-
12	M / 3*	s.c.	18.6	2	166 ^d	3.1	-	-	-
	F / 3*	s.c.	32.6	3	262 ^d	5.5	-	-	-
	M / 3**	s.c.	12.9	4	153 ^d	6.5	-	-	-
	F / 3**	s.c.	16.9	6	198 ^d	6.5	-	-	-

Mean, PK parameters were calculated by non-compartmental analysis

-: Not reported

d: AUC_{0-24h} *: ■■■■■/insulin degludec hexame Formulation, **: ■■■■■/insulin degludec hexame Formulation

2.6.4.3.1.5 ブタ

ブタへの s.c.投与時では、t_{max} は概して投与後 1～2 時間にみられた（Module 2.6.5.3.E、試験番号 204342）。全身曝露（C_{max} 及び AUC）は用量比例的に増大した。単回 s.c.投与時の終末相 t_{1/2} は s.c.投与時では約 5～6 時間であり、i.v.投与時では 1 時間であった。全身 CL は約 0.05 L/h/kg であり、V_z は 0.08 L/kg であった。s.c.投与時の生物学的利用率は 58 ～75% であった。ブタにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータを [表 2.6. 4-10](#) に示す。

表 2.6. 4-10 ブタにおける IDeg の単回投与時の薬物動態パラメータ

Study No. Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	Route of dose	C ₀ (i.v.) or C _{max} (s.c.) (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC (h × nmol/L)	t _{1/2} (h)	V _z (L/kg)	CL (L/h/kg)	Bioavailability (%)
204342									
1	F / 4	s.c.	1.62	1	13.5	6.0	-	-	75
2	F / 6	s.c.	3.14	2	23.1	5.5	-	-	58
4	F / 6	s.c.	7.25	1.5	47.4	5.1	-	-	67
2	F / 6	i.v.	46.1	-	38.6	1.0	0.079	0.052	-

Mean, PK parameters were calculated by non-compartmental analysis

2.6.4.3.2 吸収：反復投与

IDeg の反復投与時薬物動態の検討は反復投与毒性試験の一部として実施され、マウスで 2 試験、ラットで 8 試験、ウサギで 2 試験及びイヌで 4 試験が実施された (Module 2.6.5.1 参照)。薬物動態の経時的な変化は無視できる程度であり、1 日 1 回反復投与時の全身への累積は低かった (概して 2 倍未満)。累積が低いことは終末相 $t_{1/2}$ と投与間隔を考慮して予測される通りであった。各種動物における IDeg の反復投与時の曝露 (C_{max} 及び AUC) を表 2.6. 4-11 に示す。

表 2.6. 4-11 各種動物における IDeg の反復 s.c.投与時の曝露及び累積係数

Species	Study No. , Duration and Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	C_{max} (nmol/L)		AUC _{0-24h} (h × nmol/L)		Accumulation factor (Day 1 to Last dose)
			Day 1	Day last	Day 1	Day last	
Mice	209479 (13W)	15					
		M / 12	24.4	28.5	55.8	53.0	0.95
		F / 12	21.3	33.0	58.8	65.9	1.1
		40					
		M / 12	54.2	74.1	188	180	0.96
		F / 12	55.0	130	175	267	1.5
Rats	205239 (4W)	75					
		M / 12	98.6	133	312	362	1.2
		F / 12	86.8	135	265	337	1.3
		25					
		M / 12	35.5	45.0	199 ^a	244 ^a	1.2
		F / 12	43.2	49.3	230 ^a	265 ^a	1.2
	150	M / 12	285	187	161 ^{0a}	1330 ^a	0.82
		F / 12	295	255	1720 ^a	1450 ^a	0.84
		250					
		M / 12	380	426	2450 ^a	2920 ^a	1.2
		F / 12	443	595	2910 ^a	3200 ^a	1.1
	206315 (26W)	20					
		M / 9	38.7	78.2	207	544	2.6
		F / 9	46.2	95.8	226	548	2.4
		50					
		M / 9	110	246	488	1430	2.9
		F / 9	144	243	505	1150	2.3
	125	M / 9	310	543	1480	3290	2.2
		F / 9	292	599	1460	3370	2.3
	206539 (52W)	20					
		M / 20	56.6	36.5	248	399	1.6
		F / 20	46.6	61.6	224	372	1.4
		65/50/40					
		M / 20	179	72.0	859	768	1.5
		F / 20	178	109	974	707	1.2
		100/80/60					
		M / 20	233	111	1290	1000	1.3
		F / 20	241	135	1310	766	1.0

PK parameters are calculated by non-compartmental analysis, rat and mouse: parameters calculated from composite mean profiles (n=2 animals/timepoint/sex/group for study 209479, n=3 animals/timepoint/sex/group for study 205239, 206315 and n=4 animals/timepoint/sex/group for study 206539), rabbit and dog: mean.

a: AUC

表 2.6. 4-11 各種動物における IDeg の反復 s.c.投与時の曝露及び累積係数（続き）

Species	Study No. , Duration and Dose (nmol/kg/day)	Gender (M/F) / Number of animals	C _{max} (nmol/L)		AUC ₀₋₂₄ (h × nmol/L)		Accumulation factor (Day 1 to Last dose)
			Day 1	Day last	Day 1	Day last	
Rabbits	206073 (2W)						
	5	F / 6	20.1	29.1	301	430	1.4
	15	F / 6	78.2	95.2	1010	1240	1.2
	25	F / 6	122	155	1420	2080	1.4
Dogs	205238 (4W)						
	4	M / 3	5.62	5.31	60.7 ^a	60.9 ^a	1.0
		F / 3	4.44	6.23	35.8 ^a	65.7 ^a	1.9
	8	M / 3	7.88	9.69	125 ^a	124 ^a	1.4
		F / 3	9.53	10.1	93.2 ^a	134 ^a	1.3
	12	M / 3	10.3	13.9	163 ^a	222 ^a	1.4
		F / 3	14.9	19.2	200 ^a	198 ^a	1.3
	206314 (26W)						
	4	M / 4	6.83	8.71	71.3	112	1.6
		F / 4	6.67	11.1	77.4	130	1.6
	8	M / 4	12	22.8	130	278	2.1
		F / 4	9.67	14.1	118	195	1.7
	12/10/8	M / 4	10.9	13.6	139	231	2.8
		F / 4	11.8	15.9	182	224	1.9

PK parameters are calculated by non-compartmental analysis, rat and mouse: parameters calculated from composite mean profiles (n=2 animals/timepoint/sex/group for study 209479, n=3 animals/timepoint/sex/group for study 205239, 206315 and n=4 animals/timepoint/sex/group for study 206539), rabbit and dog: mean.

a: AUC

2.6.4.3.2.1 IDeg 抗体の発現と IDeg 曝露との関係

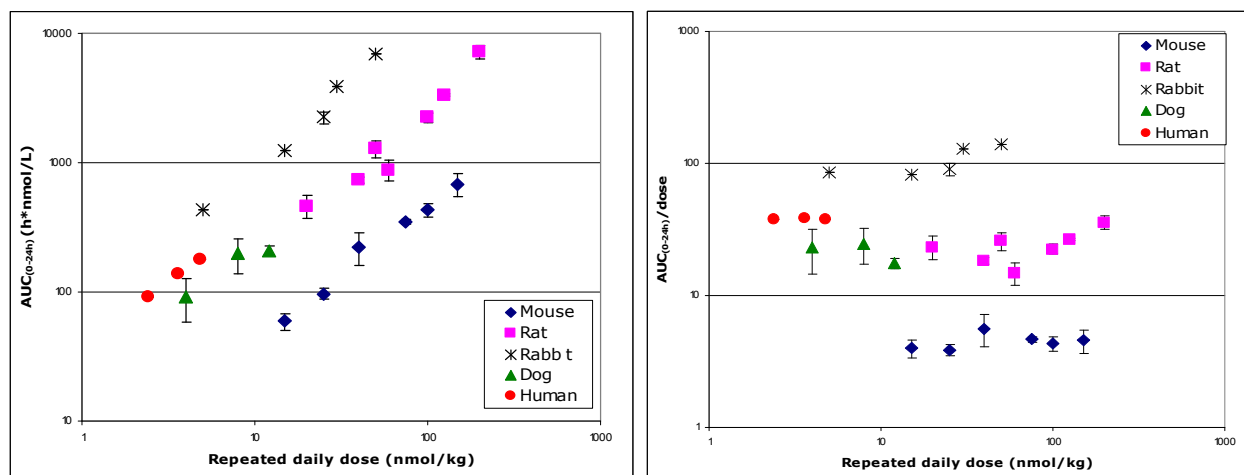
IDeg 抗体の測定は、すべての重要な反復投与毒性試験において、サテライト群又は主試験群の動物を対象に実施した。しかしながらラットでは動物あたりの採血可能量に限界があり、トキシコキネティクス解析用採血の対象個体は採取時点ごとに異なる（すなわち、同一個体内の経時的な IDeg 濃度プロファイルは得られない）。このため、IDeg 抗体陽性の個体から得たある時点の IDeg 濃度について、同一採取時点における IDeg 抗体陰性個体（同一用量群）の IDeg 濃度との比較を行った。

4 週間反復投与毒性試験（試験番号 205239）及び 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 206315）では、全 IDeg 投与群のそれぞれ 7/54 匹及び 7/51 匹が IDeg 抗体陽性であったが、概して同一採取時点における同一用量群の IDeg 抗体陰性個体と比較し IDeg 濃度に明確な差は認められなかった。52 週間反復投与毒性試験（試験番号 206539）では、1/213 匹が IDeg 抗体陽性であったが、当該個体では試験デザイン上 IDeg 投与前のポイントでしか採血していないため、同試験については IDeg 抗体と薬物動態に関する検討はできなかった。

以上の非臨床毒性試験データから得られる結論として、IDeg 抗体陽性を示した個体はごく少数例であり、また IDeg 抗体陰性動物との比較において概して IDeg 濃度に差は認められなかった。すなわち、IDeg 抗体の存在が IDeg の薬物動態に及ぼす影響は示唆されなかった。

2.6.4.3.2.2 種間比較

すべての非臨床試験で、全身曝露 ($C_{\max}$ 及び AUC) は用量比例的に増大し、薬物動態の線形性が認められた。曝露量はラット、イヌ及びヒトでは類似していたが、マウスでは数倍低く、ウサギでは数倍高かった (図 2.6.4-3)。



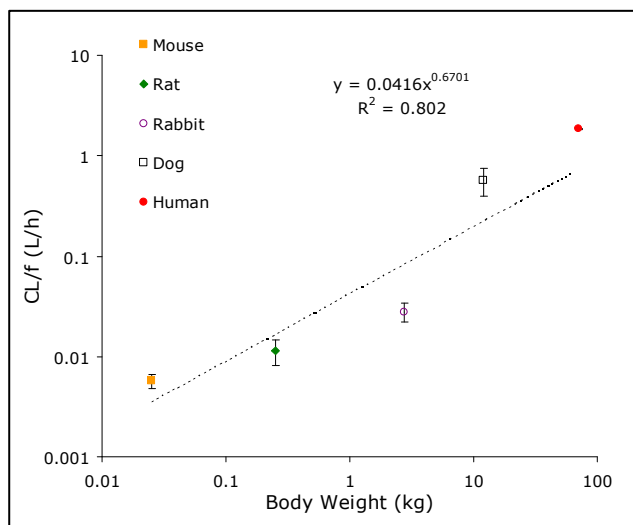
Left: AUC vs. dose; **Right:** AUC/dose vs. dose (dose normalized to 1 nmol/kg)

AUC_{0-24h} shown as mean $\pm$ SD, studies included:

Mouse: 209388 (4w), 209479 (13w); Rat: 206538 (13w), 206315 (26w), 206539 (52w); Rabbit: 206072 (2w), 206073 (2w); Dog: 205238 (4w), 206314 (26w); Human: NN1250-1993 (1w)

図 2.6.4-3 IDeg の 1 日 1 回反復 s.c.投与時における定常状態での循環血中曝露 (AUC_{0-24h}) と投与量の関係

マウス及びウサギを除き用量で標準化した曝露が動物種間で相当程度類似していることから予想される通り、s.c.投与時のクリアランス(CL/f) と体重にほぼ線形の相関が認められた (図 2.6.4-4)。生物学的利用率はラット、イヌ及びブタの試験で示されたように、全動物種で高くかつ同程度であった (>60%)。



CL/f shown as mean $\pm$ SD. Studies included:

Mouse: 209388 (4-week), 209479 (13-week); Rat: 206538 (13-week), 206315 (26-week), 206539 (52-week); Rabbit: 206072 (2-week), 206073 (2-week); Dog: 205238 (4-week), 206314 (26-week); Human: NN1250-1993 (1-week)

図 2.6. 4-4 IDeg の単回 s.c.投与時における全身クリアランス (CL/f) と体重の関係

2.6.4.4 分布

IDeg の分布を放射能標識体 (図 2.6. 4-1) をラットに単回 s.c.及び i.v.投与した試験で検討した。試験の一覧を表 2.6. 4-12 に示した。IDeg の胎盤通過は放射能非標識体を用いた妊娠ラットの試験で検討した。

表 2.6. 4-12 組織分布試験一覧 (QWBA)

Rat strain	Gender	Isotope	Dose	Route	Time points	Study no.
Wistar	male	^3H	25 nmol/kg	s.c.	0.5, 2, 5, 8 h	207366
Sprague Dawley	female	^{125}I	6 nmol/kg	i.v.	5, 10, 20 min	204209
Zucker fa/fa	male	^{125}I	6 nmol/kg	i.v.	5, 10, 20 min	205521

蛋白質の標識放射能としてヨウ素を用いた場合、IDeg 分子に対し相当程度大きい原子が付加されることになるため、分布パターンが変化する可能性がある。しかしながら、 ^{125}I 標識位置を、IDeg で用いたように A14 位のチロシン残基 (Tyr^{A14}) とした場合、インスリンの生物学的効力及び (受容体) 結合親和性を変化させないことが知られている⁴ことから放射能標識により分布及び代謝への影響はないと考えられる。また、一般にトリチウム (^3H) の導入による薬剤の分布及び代謝に対する影響はないか又は極めて限定的であるとされている。したがって、 ^{125}I -Tyr^{A14} 又は ^3H -IDeg は IDeg の分布及び代謝を検討するに当たって有効であると考えられる。

IDeg は、ペプチド骨格にグルタミン酸スペーサーを介した脂肪酸が付加された構成を有しており、代謝の結果一般的にアミノ酸及び脂肪酸に分解されると考えられるため、このようなペプチドの分布及び排泄のデータの解釈には困難があることが予想される。完全に代謝された場合、CO₂とH₂Oが産生されるか又は分解産物としてのアミノ酸及び脂肪酸が内因性の蛋白質及び脂質の生合成に再利用される。

この結果として、遊離の ¹²⁵I 又は低分子量の放射性代謝物もしくは内因性蛋白質及び脂質に取り込まれた放射能のような薬物と関連しない放射能による妨害を減少させるために、投与後短時間での測定時点の分布を検討した（表 2.6.4-12）。血漿に対する甲状腺中の放射能が i.v.投与時では低いことから、投与後 20 分（最終測定時点）までは、遊離のヨウ素の形成は少ないものと考えられた（Module 2.6.5.5.B、試験番号 204209 及び Module 2.6.5.5.C、試験番号 205521）。循環血中放射能の大部分は、s.c.投与後最長 3 時間までは IDeg 未変化体に由来するものと考えられたが、投与後 5 時間以降では放射性代謝物が血漿中に相当量存在し（Module 2.6.5.9.B、試験番号 207309）分布データの解釈に影響があると考えられた。

2.6.4.4.1 組織分布

Wistar 系ラットにおいて、放射能の最高値は s.c.投与後 2～5 時間後に得られ、吸収の遅延が認められた（Module 2.6.5.5.A、試験番号 207366）。腎及び肝（組織／血漿比：>1）、次いで血漿、歯髄及び肺に最も高い放射能が検出された（表 2.6.4-13）。他の組織の大部分では組織／血漿中濃度比は<0.2 と低かった。血漿、腎及び肝で高い放射能が認められたことから、相当部分が血漿蛋白質に結合しており、続いて消失に関わる主要な器官に受容体を介して取り込まれることが支持された。Sprague-Dawley 系ラット（表 2.6.4-14、Module 2.6.5.5.B、試験番号 204209）及び Zucker *fa/fa* ラット（表 2.6.4-15、Module 2.6.5.5.C、試験番号 205521）における [¹²⁵I]-IDeg の i.v.投与時では、血漿、ついで腎、大動脈及び肺に最も高い放射能が検出され、s.c.投与時に観察された分布パターンが確認された。

IDeg の赤血球移行性は限定的であった。放射能の全血／血漿中濃度比はイヌで約 0.6（Module 2.6.5.3.C、試験番号 207374）であり、赤血球に移行した放射能は限定的であることが示された。

結論として、血清アルブミンへの結合能が高い分子量 6kD のペプチドであることから予想される通り、IDeg の大部分の組織への取り込みは低かった。最も高い放射能がみられたのはインスリンの取り込み及び分解に関与する器官として知られている腎及び肝²であった。

2.6.4.4.2 胎盤通過

交配後 6 日から 20 日の間、IDeg（125 nmol/kg/日）を投与したラットにおける胚・胎児発生毒性試験において IDeg の胎盤通過性を検討した（Module 2.6.5.7、試験番号 208222）。血液試料は最終投与後 3 及び 9 時間に、妊娠雌及び胎児から採取した。胎児血清中曝露量は妊娠雌の血清中曝露量の 247 分の 1

(投与後 3 時間) 及び 124 分の 1 (9 時間) であった。このことから IDeg は胎盤を通過するがその程度は極めて低いことが示された (<1%)。

表 2.6. 4-13 雄性ラットに対する³H]-IDeg の s.c.投与時における組織／血漿中放射能濃度比

207366	Tissue:Plasma ratio			
Sampling times post dose	0.5 h	2 h	5 h	8 h
Tissues/organs ^a				
Plasma	1.000	1.000	1.000	1.000
Blood	0.815	0.705	0.618	0.471
Kidney cortex	0.620	1.790	3.060	3.680
Kidney medulla	0.373	0.378	0.361	0.333
Liver	0.318	0.590	1.420	2.570
Lung	0.497	0.418	0.362	0.353
Pituitary	0.128	0.263	0.143	0.099
Thyroid	0.149	0.311	0.111	0.090
Salivary glands	0.174	0.205	0.116	0.135
Bulbo-urethral gland	0.275	0.320	0.279	0.287
Epididymis	0.037	0.122	0.169	0.255
Myocardium	0.212	0.243	0.178	0.156
Tongue	0.107	0.209	0.156	0.146
Pancreas	0.270	0.208	0.154	0.135
Periosteum	0.053	0.308	0.086	0.068
Tooth pulp	0.407	0.590	0.597	0.510
Uveal tract	0.112	0.211	0.197	0.144
Oesophagus wall	0.154	0.288	0.165	0.213
Stomach mucosa (fundus)	0.145	0.211	0.173	0.120
Caecum mucosa	0.064	0.122	0.054	0.252
Rectum mucosa	0.124	0.185	0.155	0.134

N=3

a- Tissue:Plasma ratio :Mean concentration of Tissue/Mean concentration of plasma in each time point. The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Blood are added for comparison.

表 2.6. 4-14 雌性ラットに対する ^{125}I -IDeg の i.v.投与時における組織／血漿中放射能濃度比

204209	Tissue:Plasma ratio		
Sampling times post dose	5 min	10 min	20 min
Tissues/organs ^a			
Plasma	1.000	1.000	1.000
Blood	0.456	0.495	0.429
Kidney cortex (inner)	0.170	0.220	0.205
Kidney cortex (outer)	0.282	0.464	0.546
Kidney medulla	0.206	0.229	0.212
Liver	0.160	0.144	0.126
Lung	0.284	0.310	0.279
Aorta	0.294	0.323	0.330
Pineal body	0.087	0.123	0.138
Adrenal	0.243	0.157	0.131
Adrenal cortex	0.242	0.155	0.126
Adrenal medulla	0.282	0.258	0.191
Thyroid	0.121	0.168	0.483
Intra-orbital lachrymal gland	0.091	0.110	0.117
Salivary gland	0.142	0.160	0.199
Ovary	0.227	0.186	0.227
Myocardium	0.154	0.161	0.172
Nasal mucosa	0.033	0.063	0.156
Pancreas	0.119	0.132	0.129
Tooth pulp	0.120	0.138	0.213
Oesophagus wall	0.122	0.135	0.118
Stomach mucosa (fundus)	0.074	0.093	0.132

n=1

a –Tissue:Plasma ratio were calculated by Concentration of Tissue/Concentration of plasma in each time point

The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Plasma and blood are added for comparison

表 2.6. 4-15 Zucker *fa/fa* ラットに対する¹²⁵I-IDeg の i.v.投与時における組織／血漿中放射能濃度比

205521	Tissue:Plasma ratio		
Sampling times post dose	5 min	10 min	20 min
Tissues/organs ^a			
Plasma	1.000	1.000	1.000
Blood	0.461	0.480	0.476
Kidney cortex (inner)	0.237	0.277	0.290
Kidney cortex (outer)	0.211	0.405	0.518
Kidney medulla	0.272	0.239	0.295
Liver	0.134	0.119	0.150
Lung	0.313	0.321	0.367
Aorta	0.275	0.217	0.205
Pineal body	0.188	0.215	0.161
Adrenal	0.170	0.162	0.194
Pituitary	0.079	0.092	0.090
Thyroid	0.083	0.116	0.228
Exorbital lachrymal gland	0.073	0.091	0.102
Intra-orbital lachrymal gland	0.052	0.071	0.092
Salivary gland	0.057	0.060	0.094
Bulbo-urethral gland	0.091	0.107	0.146
Myocardium	0.135	0.136	0.156
Bone marrow	0.054	0.062	0.070
Pancreas	0.109	0.123	0.147
Spleen	0.054	0.095	0.085
Tooth pulp	0.109	0.134	0.169
Stomach mucosa (fundus)	0.060	0.061	0.071
Mean			
N=1-3			

a – Tissue:Plasma ratio were calculated by Concentration of Tissue/Concentration of plasma in each time point The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Plasma and blood are added for comparison

2.6.4.4.3 蛋白結合

表面プラスモン共鳴測定法（SPR 法）^{5, 6}を用いて IDeg の *in vitro* での血漿蛋白質結合率を測定した。結合アッセイは動物種又はヒト由来の希釈血漿又は精製血清アルブミンを、固定化した IDeg に対し通過させることで実施した。動物又はヒト血清アルブミンに対する IDeg の結合能は、アルブミンを結合させた Mini-LeakTM セファロースビーズ^{7, 8}を用いて測定した。

IDeg の血漿蛋白質に対する解離定数（ K_d ）を SPR 法及びアルブミンが主たる結合蛋白質であるという推定を用いて測定した（Module 2.6.5.6.A、試験番号 208378）。 K_d はラット血漿（9.3 $\mu\text{mol/L}$ ）、ウサギ血漿（4.2 $\mu\text{mol/L}$ ）、イヌ血漿（6.4 $\mu\text{mol/L}$ ）、ブタ血漿（13 $\mu\text{mol/L}$ ）及びヒト血漿（11 $\mu\text{mol/L}$ ）と各動物種間で比較的一定であった。遊離のヒト血清アルブミンへの脂肪酸の K_d （13 $\pm$ 5 $\mu\text{mol/L}$ ）は上

述のヒト血漿蛋白質の K_d と類似であり、アルブミンが血漿中での主たる結合蛋白質であることが支持された (Module 2.6.5.6.B、試験番号 208523)。

Mini-LeakTM セファロースビーズを用いて測定した動物又はヒト血清アルブミンに対する IDeg の K_d も、各動物種間で比較的一定であった (Module 2.6.5.6.C、試験番号 CES 10-January-XXXXXXXXXX 及び Module 2.6.5.6.D、試験番号 CES 01-May-XXXXXXXXXX)。観察された K_d はそれぞれラット (0.56 $\mu\text{mol/L}$)、イヌ (0.44 $\mu\text{mol/L}$)、ブタ (0.25 $\mu\text{mol/L}$) 及びヒト (0.47 及び 0.56 $\mu\text{mol/L}$) と同程度であったが、ウサギ (0.08 $\mu\text{mol/L}$) では低かった ([表 2.6. 4-16](#))。しかしながら本法による K_d は SPR 法による K_d に比べ 20 倍程度低いものであった。

表 2.6. 4-16 各種動物由来血清アルブミンに対する IDeg の結合能 (K_d を指標)

Test system	Species	Affinity (K_d) in $\mu\text{mol/L}$
Immobilised serum albumin	Rat	0.56
Immobilised serum albumin	Rabbit	0.08
Immobilised serum albumin	Dog	0.44
Immobilised serum albumin	Pig	0.25
Immobilised serum albumin	Human	0.47 ^a ; 0.56 ^b

a – Data from “CES 01-May-XXXXXXXXXX”
b – Data from “CES 10-January-XXXXXXXXXX”

2 種の測定法で得た結合能の差異は、測定手法の差異によるものである可能性が高いと考えられる。SPR 法では低分子のリガンドを表面に固定化しているのに対し、Mini-LeakTM 法では、高分子である結合蛋白をビーズの表面に固定化している。結論として Mini-LeakTM 法では、リガンドと結合蛋白とのアクセス (会合) が良好であり、真の結合能をより精確に予測できると考えられた。

両測定法ともに種間比較が可能であった。血漿蛋白質への結合は一般に SPR 法により評価したのに対して、血清アルブミンへの結合は Mini-LeakTM を用いて検討した。これらの測定では一般毒性試験に用いた動物種 (ラット及びイヌ) とヒトとで同様の結合能を示したのに対して、ウサギではやや高い結合能 (高い蛋白結合率) を示した。

すべての動物種で、血清アルブミンへの結合は高く、IDeg の血清アルブミンへの結合能は血漿蛋白結合率がすべての動物種で >99% であることに相当するものであった。

2.6.4.5 代謝

グルタミンスペーサーを介して脂肪酸が付加した構造を有するペプチドである IDeg は代謝の結果、アミノ酸及び脂肪酸に分解される。アミノ酸及び脂肪酸は内因性の蛋白質及び脂質に再利用され、完全に代謝された場合は CO_2 と水に分解されると推測される。

カテプシン D 及び肝細胞を用いた 2 種の *in vitro* 試験ならびにラット及びイヌを用いた *in vivo* 試験で代謝を検討した。

カテプシン D 存在下でインキュベートすることで、ペプチド骨格に対する最初の切断部位を検討し (Module 2.6.5.10.B、試験番号 204244)、毒性試験で用いた種 (ラット、ウサギ及びイヌ) とヒトとの種差を比較できるように、各種動物由来肝細胞を用いて、肝に取り込まれた後の一般的な代謝を検討した (Module 2.6.5.10.A、試験番号 207440)。

ラット及びイヌに [^3H]-IDeg を投与した *in vivo* 代謝試験でラット血漿 (Module 2.6.5.9.B、試験番号 207309 及び Module 2.6.5.11.A、試験番号 209425) 及びイヌ血清中 (Module 2.6.5.9.C、試験番号 207374) 代謝物に着目して検討した。尿中、胆汁中及び糞中代謝物についてはラットを用いて検討した (Module 2.6.5.9.A、試験番号 206618)。

2.6.4.5.1 代謝 (*in vitro*)

IDeg 及びヒトインスリンを *in vitro* でカテプシン D 存在下でインキュベートしたとき、初期の代謝物として 2 種の代謝物が同定された。これらは $\text{A}^{1-21}\text{-B}^{1-24}$ 及び $\text{A}^{1-21}\text{-B}^{1-25}$ であり、 $\text{Phe}^{\text{B}24}\text{-Phe}^{\text{B}25}$ 及び $\text{Phe}^{\text{B}25}\text{-Tyr}^{\text{B}26}$ が切断部位であった。文献的に同一の代謝物がヒトインスリンで報告されており⁹、これらは *in vivo* での内在性インスリンでもみられている。

[^3H]-IDeg をラット、ウサギ、イヌ及びヒト由来の肝細胞存在下でのインキュベーションを臨床用量及び毒性発現用量を反映させて 10 及び 500 nmol/L の濃度で実施した (Module 2.6.5.10.A、試験番号 207440)。インキュベーションの結果、総計 11 種の放射能成分が検出された (図 2.6.4-5)。多種の IDeg 由来代謝物が存在することから、IDeg は受容体介在性に取り込まれた後肝細胞中で完全に分解されることが確認された。ヒト試料中でみられた代謝物はラット試料中ですべて認められ、イヌでも少量の代謝物 1 種を除きすべて認められた。したがって、ヒト特異的代謝物は認められなかった。

2.6.4.5.2 代謝 (*in vivo*)

2.6.4.5.2.1 循環血中代謝物

ラット及びイヌに、[^3H]-IDeg を s.c.投与し、血漿中 (ラット) 又は血清中 (イヌ) の体循環代謝物プロファイルを検討した。代謝物プロファイルを雌雄 Wistar 系ラットに対する 25 及び 250 nmol/kg の s.c. 投与 (Module 2.6.5.9.B、試験番号 207309)、及び雄性ビーグル犬に対する 4 nmol/kg の i.v.又は s.c.投与 (Module 2.6.5.9.C、試験番号 207374) により検討した。

全体として、ラット (血漿) 及びイヌ (血清) で、代謝物プロファイルは同様であり、性差 (ラット) 及び i.v. と s.c.の投与経路による差 (イヌ) はみられなかった (図 2.6.4-6)。

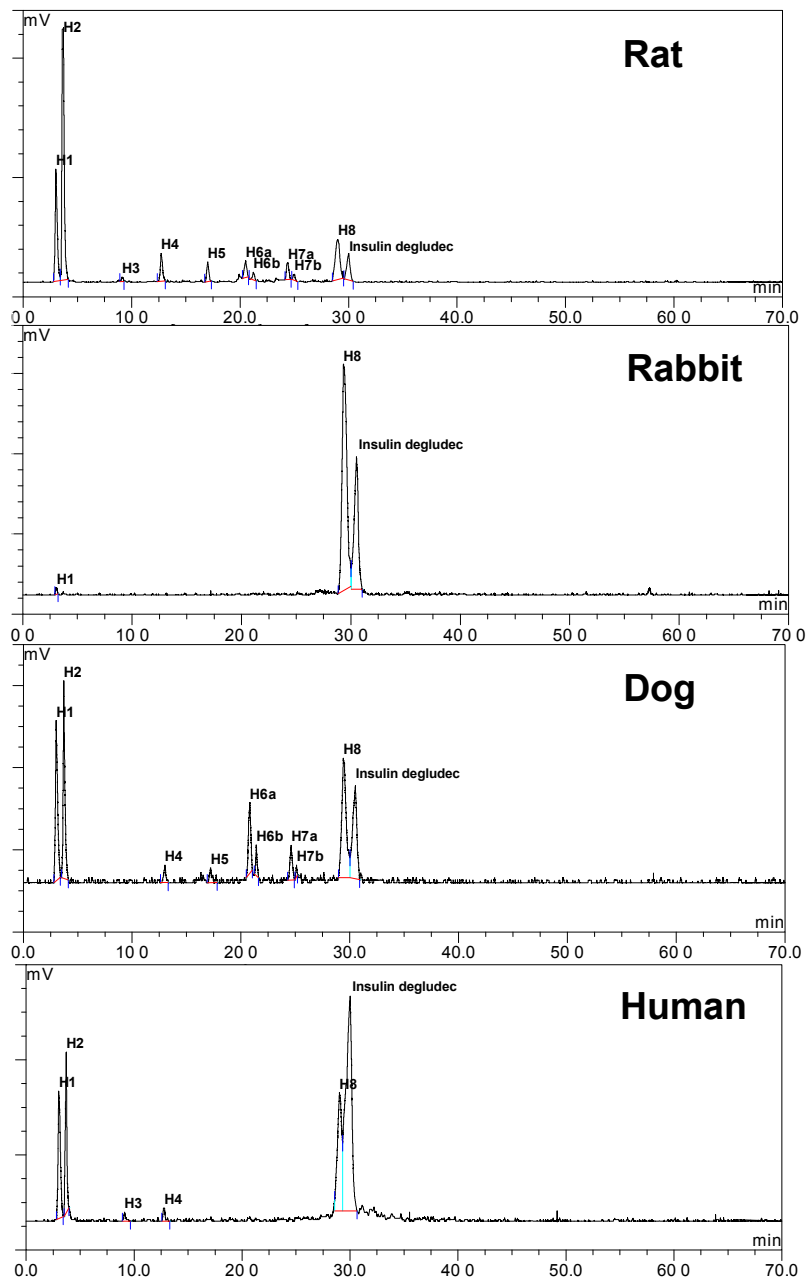


図 2.6. 4-5 凍結保存肝細胞を用いた $[^3\text{H}]$ -IDeg (500 nmol/L) 4 時間インキュベート時の代表的ラジオクロマトグラム

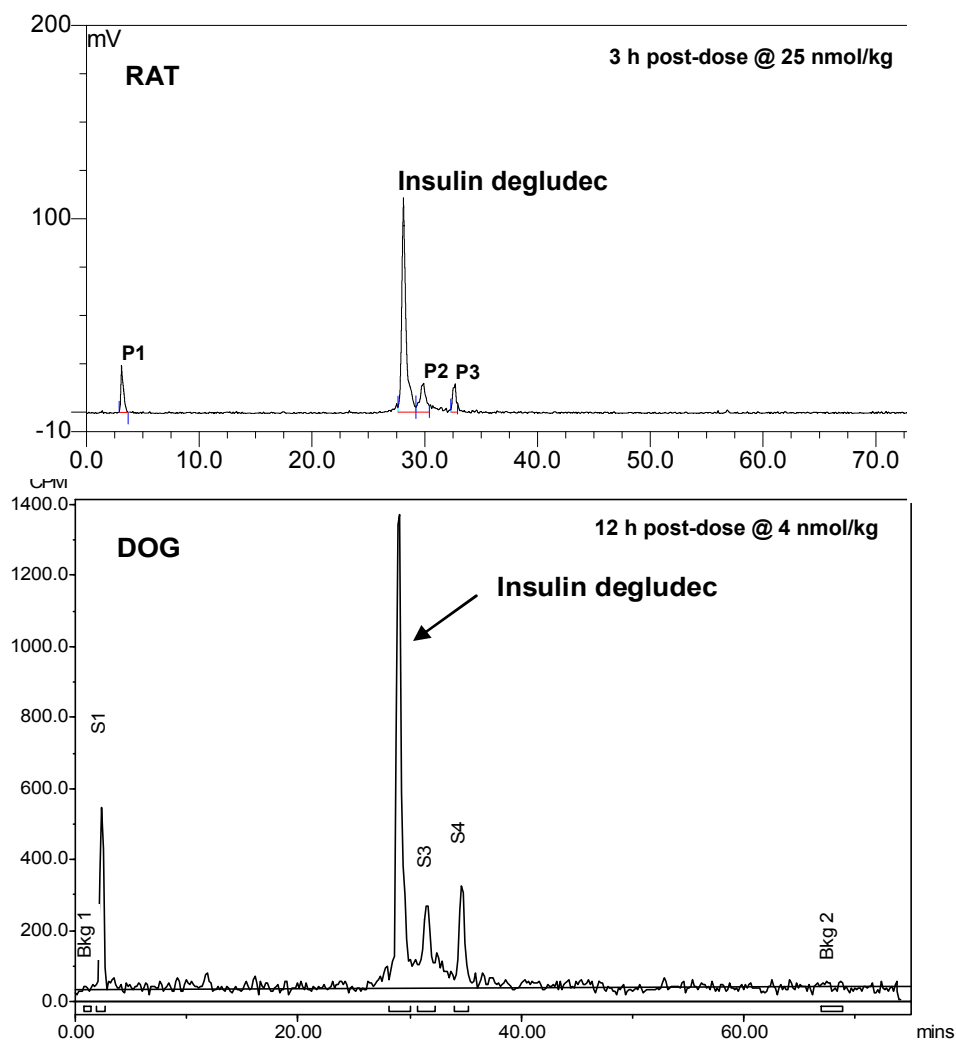


図 2.6. 4-6 $[^3\text{H}]$ -IDeg の s.c.投与時におけるラット血漿中及びイヌ血清中代謝物プロファイル

主な循環血中放射能成分は、ラット及びイヌともに IDeg 未変化体であった。極めて水溶性の高い放射能成分 (P1/S1) が HPLC クロマトグラムの注入時点に溶出した (溶出時間 (t_R) ~3 min)。IDeg 及び他の代謝物と異なり、このピークは経時的に増加し、後期測定時点ではラット血漿 (図 2.6.4-7) 及びイヌ血清中において主要なピークとなった。この溶出の早いピークは、血漿試料の凍結乾燥により消失する揮発性成分であることから、トリチウム水であると考えられる (Module 2.6.5.3.A、試験番号 206529)。トリチウム水の形成は IDeg が完全に代謝を受けることと整合的であり、代謝経路の最終産物の一つであるが、IDeg の初期の主要な代謝物とは考えられない。

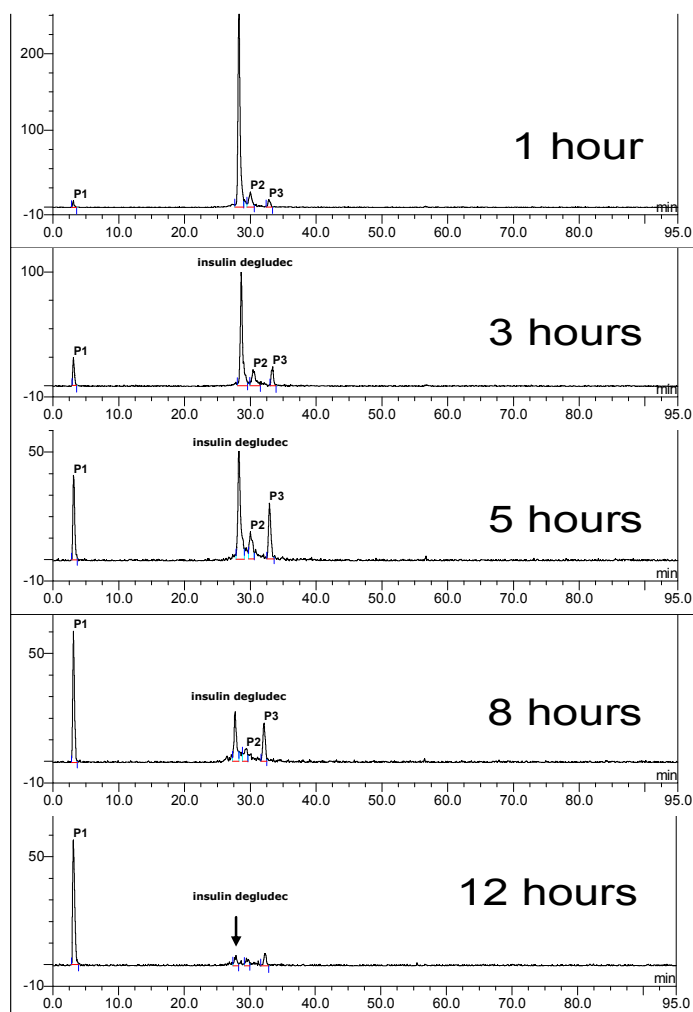


図 2.6.4-7 $[^3\text{H}]$ -IDeg の s.c.投与時におけるラット血漿中代謝物プロファイル

ラット血漿での IDeg の相対的な曝露量 ($\text{AUC}_{0-12\text{h}}$) はそれぞれ、s.c.投与時の総曝露量に対して 46～63%であり、代謝物である P1、P2 及び P3 はそれぞれ、18～33%、10～11%及び 10～13%であった。代謝物の相対比は、投与量及び性によらずほぼ同程度であった。

イヌでは、s.c.投与時の相対的な曝露量 ($\text{AUC}_{0-30\text{h}}$) は IDeg (48%) 及び代謝物である S1 (17%)、S2 (13%)、S3 (11%) 及び S4 (12%) であり、i.v.投与時の相対的な曝露量 ($\text{AUC}_{0-12\text{h}}$) はそれぞれ、IDeg (64%) 及び代謝物である S1 (7%)、S2 (9%)、S3 (11%) 及び S4 (10%) と同様であった。

ラット血漿中の循環代謝物 (Module 2.6.5.11.A、試験番号 209425) を同定した。クロマトグラムの開始時点で溶出する高極性放射能成分 (P1) は、血漿試料の凍結乾燥により消失する揮発性成分であることから、トリチウム水であった。マスマスペクトロメトリを用いた同定により、主要な放射能成分は IDeg であることが確認され、P3 は S-S 架橋が切断された完全な IDeg の B 鎖であることが同定された (図 2.6.4-8)、これはインスリンの不活性代謝物である¹⁰。また、P2 は IDeg と同一の分子量を有する成分と同定された。

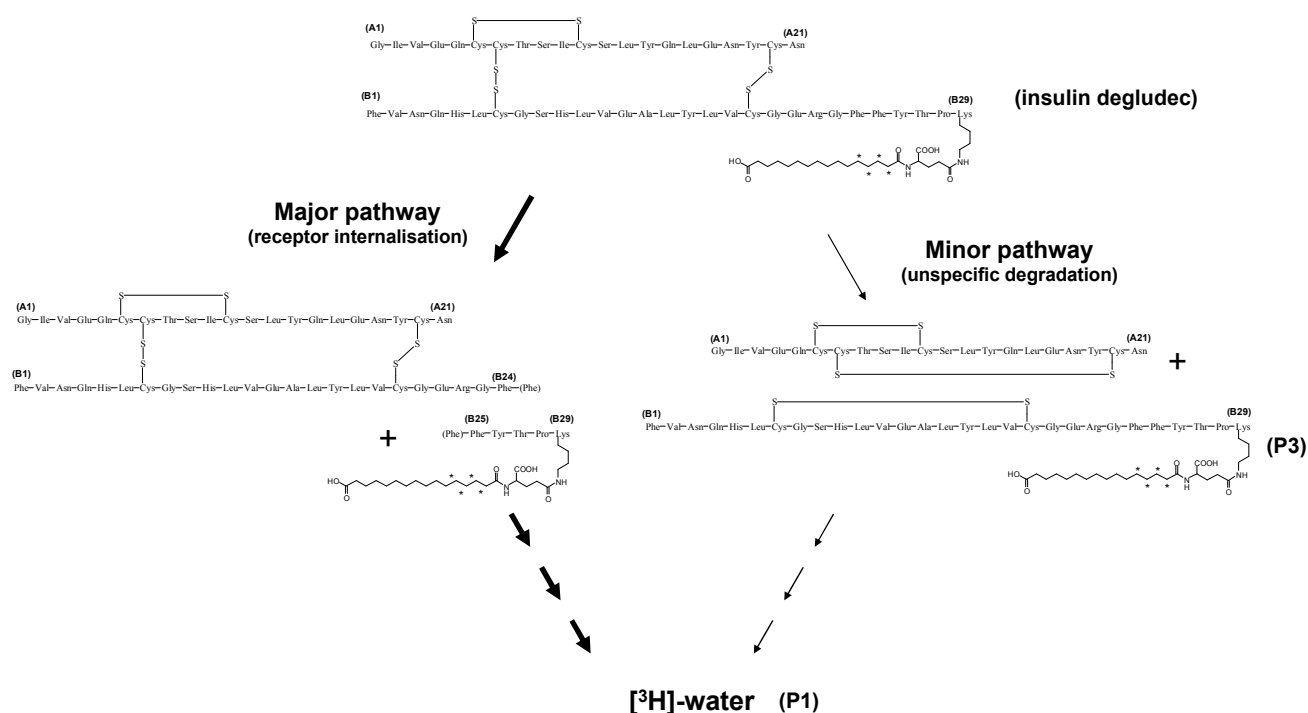


図 2.6. 4-8 $[^3\text{H}]$ -IDeg の推定代謝経路

2.6.4.5.2.2 排泄物中代謝物

雄性 Wistar 系ラット（正常及び胆管カニュレーション施行）に 25 nmol/kg の用量で $[^3\text{H}]$ -IDeg を s.c. 投与し、尿、糞及び胆汁中代謝物プロファイルを検討した（Module 2.6.5.9.A、試験番号 206618）。尿、糞及び胆汁中にそれぞれ 10 種類を超える放射能成分が観察されたが、個々の成分について、投与放射能の 6%以上を占める成分は認められなかった。尿、胆汁及び糞中における主要な放射能成分はクロマトグラムの開始時点で溶出する高極性成分であった。この高極性成分はトリチウム水であると示唆され、これは尿、胆汁及び糞中放射能成分が揮発性であることから支持される（Module 2.6.5.13.A、試験番号 206530）。さらにトリチウム水の生成に加えて多種少量の放射能成分が存在することから、IDeg が排泄前に完全に分解されることが示唆された。

2.6.4.5.2.3 乳汁中代謝物

授乳期雌性 Wistar 系ラットに 25 nmol/kg の用量で $[^3\text{H}]$ -IDeg を単回 s.c. 投与し、投与後 1～8 時間までの乳汁及び血漿試料中代謝物プロファイルを検討した（Module 2.6.5.9.D、試験番号 210344）。乳汁中に、IDeg 未変化体、2 種の代謝物、及びトリチウム水から成る 4 種の放射能成分が検出された。トリチウム水（Mi1）が乳汁中主要な成分であり（AUC_{0-8h} より算出）、IDeg 未変化体と Mi2 がそれに次いだ。血漿中では、7 種の放射能成分が観察されたが IDeg 未変化体が主要な放射能成分であり、トリチウム

水、P3、P2 の順であった。比較すると、IDeg の血漿中曝露量 (AUC_{0-8h}) は乳汁中曝露量の約 3 倍高いものであった。

2.6.4.5.3 酵素誘導

雌雄 Wister 系ラットに IDeg を 0、25、100 又は 150 nmol/kg/日の用量で 2 週間投与又は、NPH インスリンを 100 nmol/kg/日の用量で 2 週間投与し、チトクローム P450 (CYP) 酵素活性に対する IDeg の影響を検討した (Module 2.6.5.12.A、試験番号 210241)。

IDeg 投与後のラットの雌雄とも又はいずれかにおいて、有意ではあるが軽度の増加 (2 倍未満) がミクロソーム中蛋白質量、7-ethoxyresorufin O-deethylase 活性 (CYP1A) 及び 7-pentoxoresorufin O-depentylase 活性 (CYP2B) に認められた。影響は主に最高用量群で認められた。同様の増加が NPH インスリン投与時にも認められた。さらに有意ではあるが軽度の減少 (0.8 倍) が testosterone 17 β -dehydrogenase 活性に対し IDeg、NPH インスリンともに雄性ラットで認められた。

認められたすべての IDeg の影響は小さく、ヒトインスリンで認められるものと同程度であったため、ラットの CYP 発現に及ぼす影響は臨床的に問題となるものではないと考えられた。

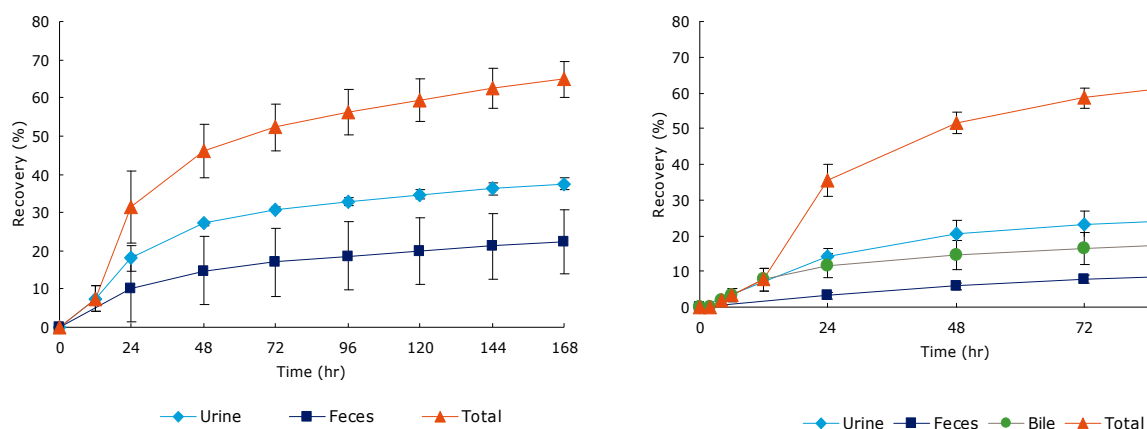
2.6.4.5.4 酵素阻害

一般に蛋白質がヒト CYP 分子種の阻害剤とは考えられていないこと、CYP 分子が細胞内で存在する小胞体内に IDeg が分布することは考えにくいことから、IDeg の CYP 分子種への影響は検討していない。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿、糞及び胆汁中排泄

雄性 Wistar 系ラット (正常及び胆管カニュレーション施行) に 25 nmol/kg の用量で [3H]-IDeg を s.c. 投与し、尿、糞及び胆汁中への放射能の排泄を検討した (図 2.6.4-9、Module 2.6.5.13.A、試験番号 206530)。投与放射能の 40%以上が 48 時間以内に排泄され、以降緩徐な排泄を伴う終末相が続いた。正常及び胆管カニュレーション施行ラットにおける放射能の累積排泄率を表 2.6.4-17 に示した。後期測定時点では、すべての生体成分 (マトリックス) で放射能の大部分が揮発性の成分 (トリチウム水) であった。概して尿、胆汁、糞及び残屍中の放射能の約 50%は揮発性の放射能成分 (トリチウム水) として存在した。



Mean±SD

図 2.6. 4-9 正常ラット（左図）及び胆管カニュレーション施行ラット（右図）における $[^3\text{H}]$ -IDeg の s.c.投与時の排泄放射能累積回収率

表 2.6. 4-17 $[^3\text{H}]$ -IDeg の s.c.投与時の排泄放射能回収率

Test system	Dose (nmol/kg)	Post-dose collection	Recovery of radioactivity (% of dose)				
			Urine	Bile	Faeces	Carcass	Total ^a
Wistar rat	25	0 – 168 h	37.4	-	22.3	22.6	87.8
Biliary cannulated Wistar rat	25	0 – 96 h	24.6	18.1	8.9	25.2	88.3

a – “Total” values represent the radioactivity recovered from all samples (urine, faeces, bile, cage washings, cage debris and carcass, as appropriate)

2.6.4.6.2 乳汁中排泄

授乳期雌性 Wistar 系ラットに 25 nmol/kg の用量で $[^3\text{H}]$ -IDeg を単回 s.c.投与し、乳汁及び血漿試料を投与後 1、3、5 及び 8 時間に採取した（[図 2.6. 4-10](#)、Module 2.6.5.13.B、試験番号 210229）。血漿では、投与後 3 時間に C_{max} に達し、その後減少した。乳汁では、経時的に放射能濃度が増加し、最終測定時点（投与後 8 時間）で最も高くなった。すべての測定時点で乳汁中放射能濃度は血漿中より低く、乳汁／血漿濃度比は 0.07（投与後 1 時間）から 0.67（投与後 8 時間）の範囲であった。

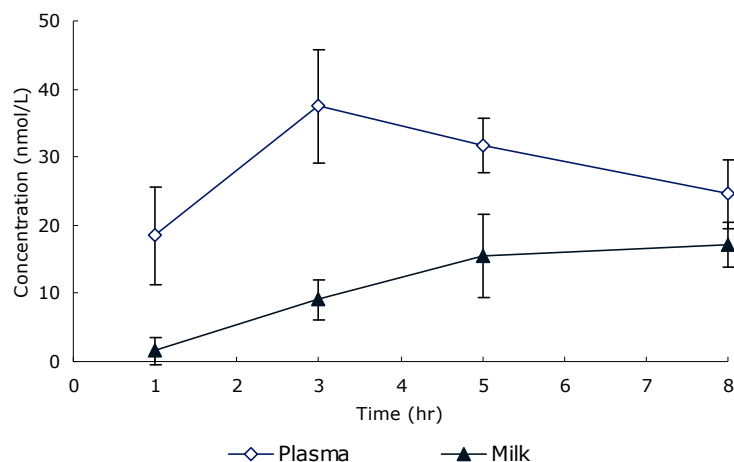


図 2.6. 4-10 ラットにおける乳汁中及び血漿中放射能濃度

Mean±SD (n=3/time point)

ca day 9 post-partum following a single subcutaneous administration of [^3H]-insulin degludec at a dose level of 25 nmol/kg body weight

2.6.4.7 薬物動態学的相互作用

IDeg のアルブミン結合に関する薬物相互作用を Mini-LeakTMセファロースビーズに結合させたアルブミンを用いて検討した (Module 2.6.5.15.A、試験番号 CES-20-January-XXXXXXXXXX 及び Module 2.6.5.15.B、試験番号 CES 101123)。

0.8 nmol/L 濃度の [^{125}I]-IDeg (89 $\mu\text{Ci/mL}$) を Mini-LeakTMセファロースビーズに結合させたヒト血清アルブミン (10 $\mu\text{mol/L}$) とともに各種濃度 (アルブミン濃度の 0~100 倍相当) のイブuprofen、ワルファリン、アセチルサリチル酸又はパルミチン酸のいずれかとともにインキュベートした。反応系を遠心分離して反応を停止させ、上清中及び沈殿中の放射能 (それぞれ、IDeg の遊離体及びアルブミン結合体の量を反映) を測定した (表 2.6. 4-18)。

表 2.6. 4-18 [^{125}I]-IDeg (0.8 nmol/L) の薬物相互作用

Drug/Compound	IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)
Palmitate	125 ^a
Warfarin	>1000
Acetylsalicylate	>5000
Ibuprofen	>5000

a – corresponding to an [IC₅₀]/[HSA] of 12.5

Data from CES-20-January-XXXXXXXXXX

25 pmol/L 濃度の ^{125}I -IDeg (89 $\mu\text{Ci/mL}$) を Mini-LeakTMセファロースビーズに結合させたヒト血清アルブミン (0.3 $\mu\text{mol/L}$) とともに各種濃度 (アルブミン濃度の 0~1000 倍相当) のイブuproフェン、ワルファリン、アセチルサリチル酸、サリチル酸、グリメピリド、メトホルミン、シタグリプチン、リラグルチド、パルミチン酸、オレイン酸又はリノール酸のいずれかとともにインキュベートした。反応系を遠心分離して反応を停止させ、上清中及び沈殿中の放射能 (それぞれ、IDeg の遊離体及びアルブミン結合体の量を反映) を測定した (表 2.6. 4-19)。表 2.6. 4-19 にも示した「 IC_{50} normalised (ヒト血清アルブミン濃度で補正した Ligand の IC_{50} 値)」によると、IDeg のアルブミン結合を半減させるには、検討対象とした薬剤又は脂肪酸のうち最も IC_{50} の低いものでもヒト血清アルブミンの 10 倍を超える濃度を必要とする計算になる。ヒト生体内における通常のアルブミン濃度が 600 $\mu\text{mol/L}$ 前後であることを考慮すると、これら薬剤又は脂肪酸が IDeg と血清中アルブミンの結合に臨床的に有意な影響を及ぼす可能性は相当に低いと考えられた。

表 2.6. 4-19 ^{125}I -IDeg (25 pmol/L) の薬物相互作用

Ligand	IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)	95% CI ($\mu\text{mol/L}$)	IC_{50} normalised [Ligand IC_{50}]/[HSA]	Typical C_{max} ^a ($\mu\text{mol/L}$)
Palmitate	3.2	1.4 - 7.2	10.67	variable < 200
Oleate	5.5	3.7 - 8.2	18.33	variable < 200
Linoleate	4.1	2.8 - 6.0	13.67	variable < 200
Ibuprofen	11	7.2 - 15	36.67	90 - 265
Glimepiride	> 100	-	> 333	0.6 - 1.2
Metformin	> 500	-	> 1666	7 - 30
Sitagliptin	> 500	-	> 1666	1
Liraglutide	> 100	-	> 333	0.035
Warfarin	> 100	-	> 333	5.8 - 7.1
Acetylsalicylate	> 500	-	> 1666	800 - 1600
Salicylate	> 100	-	> 333	Metabolite of ASA

a – from drug label, -: Not reported, ASA: Acetylsalicylate

Data from CES 101123

結論として、一般的な高蛋白質結合薬剤として、イブuproフェン、ワルファリン、アセチルサリチル酸及びサリチル酸、糖尿病で繁用されるグリメピリド、メトホルミン、シタグリプチン、リラグルチドならびにパルミチン酸、オレイン酸及びリノール酸は各々臨床濃度又は生理的濃度相当の濃度では IDeg のヒト血清アルブミン結合に影響しなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

イヌにおける薬物動態試験の一環として等張生理食塩水 (NaCl) を用いた IDeg 処方による i.v.投与試験を実施し、全身曝露の評価を行った (Module 2.6.5.3.D、試験番号 211057)。

、IDeg の曝露が

のことは、XXXXXXXXXX IDeg が XXXXXXXXXX

2.6.4.9 考察及び結論

2.6.4.9.1 考察

IDeg の薬物動態及び代謝を広範に検討した結果、IDeg 分子のタイプから予想される性質を示した。

IDeg の s.c.投与時において、IDeg は投与後数時間で $t_{\max}$ に達した。しかしながら、注射部位における可溶性マルチヘキサマーへの自己会合能のために、吸収過程が延長した。このことにより IDeg は血流中に緩徐に放出され、その結果、IDeg の s.c.投与時の消失は吸収速度に律速される。このことは、i.v.投与時と s.c.投与時とで終末相 $t_{1/2}$ が異なり、前者の投与経路では $t_{1/2}$ がより短いこととして観察される。

IDeg の i.v.投与時の全身クリアランスは各種動物では相当程度低かった。このことは、IDeg で観察される高い血漿蛋白質結合の結果であると考えられる。薬物動態試験から得られた分布容積の値は小さいものであった。

IDeg の血漿蛋白質結合能は SPR 法を用いて検討した。さらに IDeg のヒトを含む各種動物の血清アルブミンへの結合を Mini-LeakTM セファロースビーズを結合させたアルブミンを用いて測定した。これらの結果から IDeg は全動物種を通じて高い血漿蛋白質結合を示し、ウサギアルブミンに対して最も強い結合能を示した。ウサギアルブミンへの結合能が他動物より強いことは、ウサギでは他の動物種に比べ曝露量が高い（クリアランスが低い）ことを説明すると考えられる（表 2.6.4-1）。血清アルブミンへの結合率はヒトを含めすべての動物種で >99% であった。一般的な高蛋白質結合薬剤及び糖尿病で常用される薬剤ならびに脂肪酸は各々臨床濃度又は生理的濃度相当濃度では IDeg を置換しなかった。血漿蛋白質結合をさらに平衡透析と超遠心分離を用いて検討しようとしたが、おそらくは蛋白結合率が高いこと及び試験機器への非特異的吸着のために、これらの方法によっては評価できなかった。

[³H]-IDeg をラットに s.c.投与し、*in vivo* での IDeg の代謝を検討した。これらの試験の結果、IDeg が血清中での主要な成分であることが示され、後期測定時点では排泄前に広範な分解を受けることと一致してトリチウム水が主要な放射能成分として認められた。さらに 2~3 種類の少量の代謝物が認められた。放射能は主にトリチウム水として排泄された他、多数の代謝物が認められた。このことから、IDeg は細胞内に取り込まれた後完全に分解されることが示唆された。トリチウム水は IDeg のトリチウム標識脂肪酸鎖の一般的な代謝（ β 酸化）の結果生成されたものである。IDeg 標識放射能の排泄は不完全であり、残尿中に相当量残存していたが、これはトリチウム水の排泄が緩徐であること¹¹及びおそらく放射能標識脂肪酸代謝物が再利用される（すなわち脂肪酸代謝の基質として利用される）ことにより説明できる。

ヒトインスリンは腎及び肝で受容体を介した取り込みの後、酵素的に分解される²。IDeg について収集したデータから IDeg はヒトインスリンと同じクリアランスメカニズムを有していることが示唆される。

2.6.4.9.2 結論

ラット、ウサギ、イヌ及びブタへの IDeg の s.c.投与時の薬物動態の特徴として、高い循環血中への生物学的利用率、吸収速度に律速される消失、用量比例的な曝露量増大を示し、性差は認められないことが認められた。IDeg は血漿蛋白質への結合率が高く、分布容積は小さい。血清又は血漿中では主に IDeg として存在していたが、IDeg は排泄前に広範な分解を受けることと一致して、後期測定時点ではトリチウム水が主要な放射能成分として存在した。IDeg のペプチド鎖の最初の切断部位はヒトインスリンと同一であることが示された。

2.6.4.10 参考文献

- ¹ Plum A, Agersø H, Andersen L. Pharmacokinetics of the Rapid-Acting Insulin Analog, Insulin Aspart in Rats, Dogs and Pigs, and Pharmacodynamics of Insulin Aspart in Pigs. *Drug Metab Dispos.* 2000; 28: 155-160.
- ² Duckworth WC, Bennett RG, Hamel FG. Insulin Degradation: Progress and Potential. *Endocr Rev.* 1998; 19: 608-624.
- ³ Mire-Sluis AR, Barrett YC, Devanarayan V, Koren E, Liu H, Maia M et al. Recommendations for the Design and Optimization of Immunoassays Used in the Detection of Host Antibodies against Biotechnology Products. *J Immunol Methods.* 2004; 289: 1-16.
- ⁴ Gliemann J, Sonne O, Linde S, Hansen B: Biological Potency and Binding Affinity of Monoiodoinsulin with Iodine in Tyrosine A14 or Tyrosine A19. *Biochem Biophys Res Commun.* 1979; 87: 1183-1190.
- ⁵ Morton TA, Myszkka DG. Kinetic Analysis of Macromolecular Interactions using Surface Plasmon Resonance Biosensors. *Methods Enzymol.* 1998; 295: 268-294.
- ⁶ Rich RL, Day YSN, Morton TA, Myszkka DG. High-Resolution and High-Throughput Protocols for Measuring Drug/Human Serum Albumin Interactions Using BIACORE. *Anal Biochem.* 2001; 296: 197-207.
- ⁷ Kurtzhals P, Havelund S, Jonassen I, Kiehr B, Larsen UD, Ribøl U et al. Albumin Binding of Insulins Acylated with Fatty Acids: Characterization of the Ligand-Protein Interaction and Correlation between Binding Affinity and Timing of the Insulin Effect In Vivo. *Biochem J.* 1995; 312: 725-731.
- ⁸ Kurtzhals P, Havelund S, Jonassen I, Kiehr B, Ribøl U, Markussen J. Albumin Binding and Time Action of Acylated Insulins in Various Species. *J. Pharm. Sci.* 1996; 85: 304-308.
- ⁹ Authier F, Métioui M, Fabrega S, Kouach M, Briand G. Endosomal Proteolysis of Internalised Insulin at the C-Terminal Region of the B Chain by Cathepsin D. *J Biol Chem.* 2002; 277: 9437-9446.
- ¹⁰ Dixon GH, Wardlaw AC. Regeneration of Insulin Activity from Separated and Inactive A and B Chains. *Nature.* 1960; 188: 721-724.
- ¹¹ Foy JM. The Biological Half-Life of Tritiated Water in The Mouse, Rat, Guinea- Pig and Rabbit under Tropical Conditions and the Effect of Climate and Saline Drinking on the Biological Half-Life of Tritiated Water in the Rat. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 1964; 64: 279-282.

トレシーバ注 フレックスタッチ
トレシーバ注 ペンフィル

2.6.5 薬物動態試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

	ページ
目次.....	2
2.6.5 薬物動態試験概要表.....	4
2.6.5.1 薬物動態試験一覧.....	4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション報告.....	11
2.6.5.3 単回投与時の吸収.....	12
2.6.5.3.A ラット、SD (放射能) – 206529.....	12
2.6.5.3.B イヌ、SD – 207374.....	13
2.6.5.3.C イヌ、SD (放射能) – 207374.....	14
2.6.5.3.D イヌ、SD – 211057.....	15
2.6.5.3.E ブタ、SD – 204342.....	16
2.6.5.3.F 各種動物における単回静脈内投与時の薬物動態パラメータ概要.....	17
2.6.5.3.G イヌ単回静脈内投与時全身曝露 – 205160.....	19
2.6.5.4 薬物動態：反復投与時における吸収.....	20
2.6.5.4.A マウス、4 週間 – 209388.....	20
2.6.5.4.B マウス、13 週間 – 209479.....	21
2.6.5.4.C ラット、2 週間 – 204316.....	22
2.6.5.4.D ラット、4 週間 – 205239.....	23
2.6.5.4.E ラット、13 週間 — 206538.....	24
2.6.5.4.F ラット、26 週間 – 206315.....	25
2.6.5.4.G ラット、52 週間 – 206539.....	26
2.6.5.4.H ラット、生殖毒性、反復投与 – 206075.....	28
2.6.5.4.I ラット、生殖毒性、反復投与 – 208335.....	29
2.6.5.4.J ラット、生殖毒性、反復投与 – 208336.....	30
2.6.5.4.K ラット、1 週間ブリッジング試験 – 206016.....	31
2.6.5.4.L ラット 4 週間（劣化品（aged）及び非劣化品（non-aged）の比較） – 210227.....	32
2.6.5.4.M ウサギ、2 週間 – 206072.....	33
2.6.5.4.N ウサギ、生殖毒性 反復投与 – 206073.....	34
2.6.5.4.O イヌ、4 日間（最大耐量（MTD）試験、用量漸増試験） – 204317.....	35
2.6.5.4.P イヌ、2 週間（MTD 試験、用量固定試験） – 204317.....	36
2.6.5.4.Q イヌ、4 週間 – 205238.....	37
2.6.5.4.R イヌ、26 週間 – 206314.....	38
2.6.5.4.S イヌ、1 週間（ブリッジング試験） – 206015.....	39

2.6.5.5 薬物動態：組織分布	40
2.6.5.5.A 組織分布、Wister 系ラット- 207366.....	40
2.6.5.5.B 組織分布、Sprague-Dawley 系ラット- 204209.....	42
2.6.5.5.C 組織分布、Zucker <i>fa/fa</i> ラット- 205521.....	44
2.6.5.6 蛋白結合	46
2.6.5.6.A ラット、ウサギ、イヌ、ブタ及びヒト血漿中蛋白結合- 208378	46
2.6.5.6.B ヒト血清アルブミン結合- 208523	47
2.6.5.6.C ラット、ウサギ、イヌ、ブタ及びヒト血清アルブミン結合- CES 10 January- [REDACTED]	48
2.6.5.6.D ヒト血清アルブミン結合- CES 01-May- [REDACTED]	49
2.6.5.7 薬物動態：妊娠及び授乳期の動物での試験 - 208222	50
2.6.5.8 その他の分布試験	50
2.6.5.9 薬物動態：代謝 (<i>in vivo</i> 試験)	51
2.6.5.9.A ラットにおける代謝物（尿、胆汁及び糞）- 206618	51
2.6.5.9.B ラットにおける代謝物（血漿）- 207309	52
2.6.5.9.C イヌにおける代謝物（血清）- 207374	53
2.6.5.9.D ラットにおける代謝物（血漿及び乳汁）- 210344	54
2.6.5.10 薬物動態：代謝 (<i>in vitro</i> 試験)	55
2.6.5.10.A 肝細胞を用いた種間比較- 207440	55
2.6.5.10.B <i>In vitro</i> 代謝試験（カテプシン D）- 204244	56
2.6.5.11 薬物動態：推定代謝経路	57
2.6.5.11.A ラット血漿中代謝物の構造決定- 209425	57
2.6.5.11.B 2.6.5.11.B 推定代謝経路	58
2.6.5.12 薬物動態：薬物代謝酵素誘導及び阻害	59
2.6.5.12.A ラットにおける CYP 誘導- 210241.....	59
2.6.5.13 薬物動態：排泄	61
2.6.5.13.A ラットにおける排泄- 206530	61
2.6.5.13.B 乳汁中分泌- 210229	63
2.6.5.14 薬物動態：胆汁中排泄	64
2.6.5.15 薬物動態：薬物相互作用	65
2.6.5.15.A ヒト血漿アルブミン結合に関する相互作用- CES 20-January- [REDACTED]	65
2.6.5.15.B ヒト血清アルブミン結合に関する相互作用- CES 101123	66
2.6.5.16 薬物動態：その他の薬物動態試験	67

2.6.5 藥物動態試驗概要表

2.6.5.1 藥物動態試驗一覽

Test Article: Insulin degludec

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
2.2 Absorption					
28 Day Subcutaneous Administration Range-finding Study in the Mouse ^a	Mouse	s.c. (repeated doses)	██████(UK)	209388	4.2.3.7.7 Other toxicity studies 4.2.3.7.7.2
13 Week Subcutaneous Administration Toxicity Study in the Mouse ^a _½	Mouse	s.c. (repeated doses)	██████(UK)	209479	4.2.3.7.7 Other toxicity studies 4.2.3.7.7.3
2-week Dose Range Finding Study by Subcutaneous Administration and Single Dose Pharmacokinetic Study by Intravenous Administration in Wister Rats	Rat	s.c. (repeated doses) i.v. (single dose)	Novo Nordisk	204316	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.1
4-week toxicity study in rats with daily subcutaneous administration of NNC 0100-0000-0454 ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	██████████	205239	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.5
A 7-Day Pharmacokinetic Study of Insulin 454 ██████████ Formulation in Rats ^a	Rat	s.c. (repeated doses) i.v. (single dose)	██████████	206016	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.1
13-Week DRF study in Sprague Dawley Rats ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	██████████	206538	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.2

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
A 6-Month Study with a 4-Week Recovery Period in Rats with Daily Subcutaneous Administration of Insulin 454 ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	206315	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.6
A 52-Week Toxicity Study in Rats with Daily Subcutaneous Administration of Insulin 454 ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	206539	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.7
Preliminary Combined Fertility And Embryo-Fetal Toxicity Study By Subcutaneous Administration To Han Wistar Rats ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	206075	4.2.3.5.1 Fertility and early embryonic development 4.2.3.5.1.1
NNC 0100-0000-0454 (Aged and Non-Aged): 1-Month Subcutaneous Toxicity Study in Rats (Bridging study) ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	210227	4.2.3.7.6 Impurities 4.2.3.7.6.1
[³ H]-NNC 0100-0000-0454: A study of pharmacokinetics following a single subcutaneous and intravenous administration to the rat ^a	Rat	s.c. (single dose) i.v. (single dose)	[REDACTED] (UK)	206529	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.2
Pilot study in the rabbit by subcutaneous administration	Rabbit	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	206072	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.3
Preliminary Embryo-Fetal Toxicity Study By Subcutaneous Administration To Rabbits ^a	Rabbit	s.c. (repeated doses)	[REDACTED]	206073	4.2.3.5.2 Embryo-foetal development 4.2.3.5.2.1

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
[³ H] -Insulin 454: A study of serum pharmacokinetics following subcutaneous and intravenous administration to the dog ^a	Dog	s.c. (single dose) i.v. (single dose)	██████ (UK)	207374 (insulin degludec) 207374 (Radioactivity)	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.4
PK in Beagle Dog after IV and SC Administration	Dog	s.c. (single dose) i.v. (single dose)	Novo Nordisk	211057	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.6
Maximum Tolerated Dose Study by Subcutaneous Administration and Pharmacokinetic Study by Intravenous Administration to Beagle Dogs	Dog	s.c. (repeated doses) i.v. (single dose)	Novo Nordisk	204317 Dose escalation 204317 Fixed dose	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.4
A 4-week toxicity study in dogs with daily subcutaneous administration of NNC 0100-0000-0454 ^a	Dog	s.c. (repeated doses)	██████████	205238	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.8
A 7-Day Pharmacokinetic Study of Insulin 454 ██████████ Formulation in Dogs ^a	Dog	s.c. (repeated doses) i.v. (single dose)	██████████	206015	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.3
A 6-Month Study with a 4-Week Recovery Period in Dogs with Daily Subcutaneous Administration of Insulin 454 ^a	Dog	s.c. (repeated doses)	██████████	206314	4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.9
Pharmacokinetic profile after intravenous dosing of NNC 0100-0000-0454 to Beagle Dogs	Dog	i.v. (single dose)	Novo Nordisk	Flmn071102	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.4

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Effects on General Haemodynamics in Anaesthetised, Mechanically Ventilated Beagle Dogs ^a	Dog	i.v. (single dose)	██████	205160	4.2.1.3 Safety Pharmacology 4.2.1.3.4
Pharmacokinetics after single intravenous and subcutaneous administration to pigs ^a	Pig	s.c. (single dose) i.v. (single dose)	Novo Nordisk	204342	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.5
2.3 Distribution					
[³ H]-Insulin 454: A study of distribution, by quantitative whole-body autoradiography, following subcutaneous administration to the rat ^a	Rat	s.c. (single dose)	██████ (UK)	207366	4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.1
[¹²⁵ I]-0454: A study of distribution in the rat after intravenous dosing by quantitative whole-body autoradiography ^a	Rat	i.v. (single dose)	██████ (UK)	204209	4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.2
[¹²⁵ I]-NNC 100-0454: A study of distribution, by quantitative whole-body autoradiography following intravenous administration to the Zucker fa/fa rat ^a	Rat	i.v. (single dose)	██████ (UK)	205521	4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.3
In vitro binding to rat, rabbit, pig, dog and human plasma proteins	Plasma: Rat, rabbit, dog, pig, and human	n.a.	Novo Nordisk	208378	5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports 5.3.2.1.1

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
In vitro binding to human albumin insulin 454	Serum albumin: Human	n.a.	Novo Nordisk	208523	5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports 5.3.2.1.2
Comparative study of binding to human, rat, porcine, rabbit and canine serum albumins	Serum albumin: Rat, rabbit, dog, pig and human	n.a.	Novo Nordisk	CES 10-January- 	5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports 5.3.2.1.3
Binding to human serum albumin	Serum albumin: Human	n.a.	Novo Nordisk	CES 01-May- 	5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports 5.3.2.1.4
Fetal Exposure Study in the Han Wistar Rat by Subcutaneous Administration	Pregnant rat	s.c. (repeated doses)		208222	4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.4
2.4 Metabolism					
[³ H]-NNC 0100-0000-0454: Investigation of Metabolites in the Wistar Rat Following Single Dose Administration	Rat	s.c. (single dose)	Novo Nordisk	206618	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.1
[³ H]-Insulin 454: Metabolite Profiling of Plasma from Male and Female Wistar Rats Following Single Subcutaneous Administration ^a	Rat	s.c. (single dose)	Novo Nordisk	207309	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.2

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
[³ H]-Insulin 454: Structural Characterisation of Metabolites in Plasma from the Male Wistar Rat Following Single Subcutaneous Administration ^a	Rat	s.c. (single dose)	Novo Nordisk	209425	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.3
[³ H]-Insulin 454: A study of serum pharmacokinetics following subcutaneous and intravenous administration to the dog ^a	Dog	s.c. (single dose) i.v. (single dose)	██████ (UK)	207374	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.4
In vitro metabolic stability of NNC 0100-0000-0454 and human insulin after incubation with Cathepsin D	Cathepsin D	n.a.	Novo Nordisk	204244	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.5
Insulin 454 Metabolism in rat, rabbit, dog, human hepatocytes cross species comparison	Hepatocytes: Rat, rabbit, dog and human	n.a.	Novo Nordisk	207440	5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies 5.3.2.2.1
Insulin degludec: Study to Investigate the Effect on Liver Cytochrome P450 Enzymes after Subcutaneous Administration to Han Wistar Rats for 2 Weeks, with NPH Insulin as Comparator ^a	Rat	s.c. (repeated doses)	████████████████	210241	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.6
[³ H]-Insulin degludec: Metabolite Profile Analysis of Milk and Plasma from Lactating Rats Following Single Subcutaneous Administration	Rat	s.c. (single dose)	Novo Nordisk	210344	4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.7

Report Title	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
2.5 Excretion					
[³ H]-NNC 0100-0000-0454: A study of absorption and excretion following a single subcutaneous administration to the rat ^a	Rat	s.c. (single dose)	██████(UK)	206530	4.2.2.5 Excretion 4.2.2.5.1
[³ H]-insulin degludec: A study of lacteal secretion in the rat following subcutaneous administration ^a	Rat	s.c. (single dose)	██████(UK)	210229	4.2.2.5 Excretion 4.2.2.5.2
2.6 Pharmacokinetic Drug Interactions					
Drug interaction of binding to human serum albumin	Serum albumin: Human. Effect of palmitate, warfarin, acetylsalicylate and ibuprofen	n.a.	Novo Nordisk	CES 20-January-██████	5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies 5.3.2.2.2
Insulin 454: Drug-drug interaction of binding to human serum albumin	Drug-drug interaction of binding to human serum albumin	n.a.	Novo Nordisk	CES 101123	5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies 5.3.2.2.3
2.7 Other					
No studies performed					

a – GLP compliant study

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション報告

See Module 2.6.4.2

2.6.5.3 単回投与時の吸収

2.6.5.3.A ラット、SD (放射能) - 206529

Test Article: Insulin degludec

Report Title:

[³H]-NNC 0100-0000-0454: A study of pharmacokinetics following a single subcutaneous and intravenous administration to the rat

Study No.: 206529

Location in CTD: 4.2.2.2 Absorption
4.2.2.2.2

	Group A		Group B	
Species	Wistar Rat		Wistar Rat	
Gender (M/F) / Number of animals	3M		3M	
Feeding condition	Fed		Fed	
Vehicle/Formulation				
Analyte	Radioactivity		Radioactivity	
Assay	liquid scintillation counting		Liquid scintillation counting	
Method of Administration	Subcutaneous		Intravenous	
Dose (nmol/kg)	25		6	
Sample	Blood	Plasma	Blood	Plasma
PK parameters (mean±SD)				
t _{max} (h)	3.3±1.5	2.3±1.2	NA	NA
C ₀ (nmol/L)	NA	NA	33.3±4.03	49.4±19.9
C _{max} (nmol/L)	42.1±2.3	81.7±39.7	NA	NA
AUC _{0-36h} (h × nmol / L)	869.5±77.8	1121±34.4	212.2±25.0	276.9±37.9
AUC (h × nmol / L)	1435±94.7	1665±141	327.7±16.5	389.3±98.5
t _½ (h)	27.2±4.5	22.7±2.6	27.87±3.05	23.24±8.35

NA - Not applicable

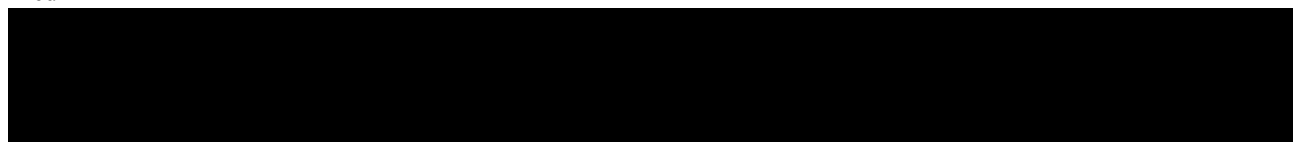
Additional Information:

The concentration data in plasma and blood was converted from pmol/g to nmol/L, with the assumption that the density was 1000 g/L.

2.6.5.3.B イヌ、SD - 207374

Test Article: Insulin degludec**Report Title:** [³H] -Insulin 454: A study of serum pharmacokinetics following subcutaneous and intravenous administration to the dog**Study No.:** 207374**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.4

Species Dog/Beagle
Gender (M/F) / Number of animals 3M
Feeding condition Fed
Vehicle/Formulation



Matrix Serum
Analyte Insulin degludec
Assay ELISA
Dose (nmol/kg) 4.0

Sample Method of Administration	Serum	
	Subcutaneous	Intravenous
PK parameters (mean±SD)		
t_{max} (h)	8±4	NA
C₀ (nmol/L)	NA	40.1±1.7
C_{max} (nmol/L)	5.76±1.24	NA
AUC_{0-30h} (h × nmol /L)	67.2±16.6	84.9±13.9
AUC (h × nmol /L)	68.2±16.4	95.1±14.3
t_½ (h)	3.98±0.63	3.43±0.09
V_Z (L/kg)	NA	0.212±0.037
CL (L/h/kg)	NA	0.0427±0.0064
F (%)	73.9±27.8	NA

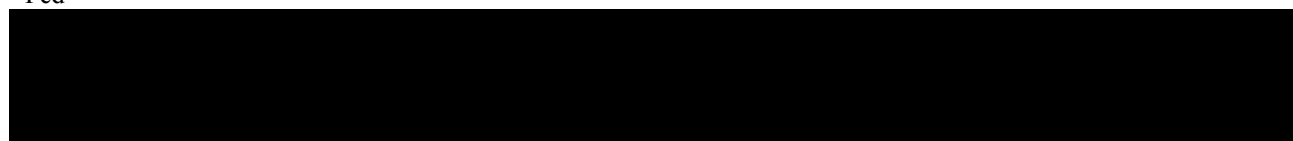
NA - Not applicable

Additional Information: None

2.6.5.3.C イヌ, SD (放射能) - 207374

Test Article: Insulin degludec**Report Title:** [³H] -Insulin 454: A study of serum pharmacokinetics following subcutaneous and intravenous administration to the dog**Study No.:** 207374**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.4

Species Dog/Beagle
Gender (M/F) / Number of animals 3M
Feeding condition Fed
Vehicle/Formulation



Analyte Radioactivity
Assay Liquid scintillation counting
Dose (nmol/kg) 4.0
Sample Serum

Method of Administration	PK parameters (mean±SD)		Whole blood : Serum radioactivity ratios		
	Subcutaneous	Intravenous	Time (h)	Subcutaneous	Intravenous
t _{max} (h)	8±3.5	NA	0.25	NA	0.606±0.036
C _t (nmol/L)	NA	41.5±1.5	0.5	0.558±0.105	0.630±0.064
C _{max} (nmol/L)	14.0±1.81	NA	1	0.592±0.014	0.650±0.060
AUC _{0-30h} (h × nmol/L)	267±20.3	202±19.4	3	0.600±0.011	0.639±0.006
AUC (h × nmol/L)	365±30.8	262±27.5	6	0.605±0.023	0.553±0.141
t _{1/2} (h)	13.7±1.94	15.1±0.5	12	0.613±0.011	0.649±0.014
V _Z (L/kg)	NA	0.335±0.026	24	0.626±0.025	0.618±0.034
CL (L/h/kg)	NA	0.0154±0.0017	30	0.651±0.017	0.582±0.046

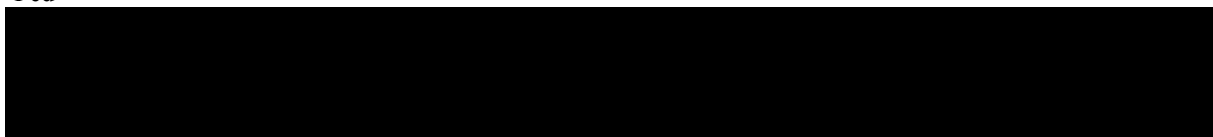
NA - Not applicable

Additional Information: None

2.6.5.3.D イヌ、SD - 211057

Test Article: Insulin degludec**Report Title:** Insulin degludec: Pharmacokinetics in the Beagle Dog after Intravenous and Subcutaneous Administration**Study No.:** 211057**Location in CTD:** 4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.6

Species Dog/Beagle
Gender (M/F) / Number of animals 8M
Feeding condition Fed
Vehicle/Formulation



Analyte Insulin degludec
Assay ELISA
Dose (nmol/kg) 0.24 and 2.4
Sample Serum

	Treatment A	Treatment B	Treatment C	Treatment D	Treatment E
Pharmacokinetics (mean±SD), n=8)	0.24 nmol/kg, i.v.	0.24 nmol/kg, i.v.	2.4 nmol/kg, i.v.	2.4 nmol/kg, s.c.	0.24 nmol/kg, i.v.
t_{max} (h)	NA	NA	NA	6-8	NA
C₀ (nmol/L)	4.30±0.47	4.52±0.50	40.0±2.7	NA	4.04±0.59
C_{max} (nmol/L)	NA	NA	NA	6.62±0.92	NA
AUC (h × nmol/L)	10.5±1.1	11.5±1.3	115±11	80.8±12.1	8.00±0.89
t_{1/2} (h)	3.5±0.2	3.7±0.3	3.5±0.2	5.3±0.3	3.5±0.4
V_Z (L/kg)	0.121±0.011	0.116±0.016	0.109±0.008	NA	0.163±0.008
CL (L/h/kg)^b	0.0239±0.0027	0.0218±0.0023	0.0217±0.0022	NA	0.0324±0.0036
MRT (h)	3.3±0.2	3.8±0.4	3.9±0.3	12±1	3.2±0.3
MAT (h)	NA	NA	NA	8.0±1.2 ^a	NA
F (%)	NA	NA	NA	62-80 ^a	NA

NA - Not applicable,

a – Range, calculated using individual data from Treatment C

Additional Information: Treatments A and E formulated in NaCl were shown to consist of various degrees of multi-hexamers. Hence these data should be interpreted with caution.

2.6.5.3.E ブタ、SD - 204342

Test Article: Insulin degludec

Study design	All animals received all treatments in a cross-over design	Study No.: 204342
Species	Pig/LYD	Location in CTD: 4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.5
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation		
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma	
Analyte	Insulin degludec	
Assay	ELISA	

Method of administration	Subcutaneous			Intravenous
	1	2	4	2
Dose (nmol/kg)				
Gender (M/F) / Number of animals	F / 4	F / 6	F / 6	F / 6
PK parameters:(mean±SD)				
t_{max} (h)^a	1 (0.5 - 3.0)	2 (1.0 - 3.0)	1.5 (1.0 - 2.0)	-
C_{max} (nmol/L)	1.62±0.15	3.14±1.32	7.25±2.65	-
C₀ (nmol/L)	-	-	-	46.1±3.7
AUC (h × nmol/L)	13.5±3.5	23.1±5.2	47.4±3.8	38.6±2.4
t_{1/2} (h)	6.0±2.4	5.5±1.0	5.1±0.4	1.0±0.2
F (%)	75±22	58±14	67±10	-
CL (L/h/kg)	-	-	-	0.052±0.003
V_z (L/kg)	-	-	-	0.079±0.018

a – Median value (range)

Additional Information: None

2.6.5.3.F 各種動物における単回静脈内投与時の薬物動態パラメータ概要

Species:	Rat, dog and pig						Test Article: Insulin degludec					
Feeding condition	Fed											
Vehicle/Formulation												
Method of Administration	Intravenous											
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma/serum											
Analyte	Insulin degludec											
Assay	ELISA; LOCI sandwich immunoassay (in study flmn071102)											
Study Number:	204316		206016				204317 ^a		flmn071102 ^b		207374	
Location in CTD:	4.2.3.2. Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.1		4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.1				4.2.3.2. Repeat-dose Toxicology 4.2.3.2.4		4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.4		4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.4	
Species	Rat		Rat				Dog		Dog		Dog	
Gender (M/F) / No of animals	M / 15	F / 15	M / 9		F / 9		M / 1	F / 1	M / 4	M / 4	M / 3	
Vehicle/Formulation	A	A	B	D	B	D	A	A	E	C	E	
Dose (nmol/kg)	7.5	7.5	6	6	6	6	1.5	1.5	1	1	4	
PK parameters (mean):												
C ₀ (nmol/L)	51.1	51.2	-	-	-	-	20.3	17.5	-	-	40.1	
AUC (h × nmol/L)	69.3	69.5	28.7	26.0	31.1	27.5	50.3	34.2	56.1	57.6	95.1	
t _½ (h)	1.5	1.8	1.9	1.5	1.2	1.1	2.9	2.0	2.9	2.8	3.4	
V _Z (L/kg)	0.24	0.29	0.58	0.50	0.34	0.35	0.13	0.13	0.078	0.070	0.21	
CL (L/h/kg)	0.11	0.11	0.21	0.23	0.19	0.22	0.030	0.040	0.018	0.017	0.043	

a - Presented data corresponds to: Male = Dog 1, Female = Dog 2.

b - PK parameters are converted as different units were reported in the study report

Additional Information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group for study 204316 and 206016). PK parameters for dog (except for study 204317) and pig are mean.

2. 6. 5. 3. F (続き)

Species:	Rat, dog and pig								Test Article: Insulin degludec		
Feeding condition	Fed										
Vehicle/Formulation											
Method of Administration	Intravenous										
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma/serum										
Analyte	Insulin degludec										
Assay	ELISA; LOCI sandwich immunoassay (in study flmn071102)										
NN Study Number:	206015								211057		204342
Location in CTD:	4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.3								4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.6		4.2.2.2 Absorption 4.2.2.2.5
Species	Dog								Dog		Pig
Gender (M/F) / No of animals	F / 3	M / 3	F / 3	M / 3	F / 3	M / 3	F / 3	M / 3	M / 8		F / 6
Vehicle/Formulation	B	B	B	B	B	B	B	B	F	F	B
Dose (nmol/kg)	2	2	4	4	8	8	12	12	0.24	2.4	2
PK parameters (mean):											
C ₀ (nmol/L)	12.0	8.81	15.4	20.0	26.8	55.1	65.4	50.1	4.52	40.0	46.1
AUC (h × nmol/L)	25.3	27.4	37.8	46.1	73.3	129	149	180	11.5	115	38.6
t _½ (h)	1.85	3.32	2.58	2.36	2.67	3.31	3.18	3.24	3.7	3.5	1.0
V _Z (L/kg)	0.21	0.24	0.48	0.30	0.50	0.30	0.38	0.31	0.116	0.109	0.079
CL (L/h/kg)	0.079	0.074	0.14	0.088	0.13	0.063	0.082	0.068	0.0218	0.0217	0.052

a - Presented data corresponds to: Male = Dog 1, Female = Dog 2. b - PK parameters are converted as different units were reported in the study report

Additional Information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group for study 204316 and 206016). PK parameters for dog (except for study 204317) and pig are mean.

2.6.5.3.G イヌ単回静脈内投与時全身曝露 - 205160

Test Article: Insulin degludec**Report Title:** NNC 0100-0000-0454: Effects on General Haemodynamics in Anaesthetised, Mechanically Ventilated Beagle Dogs**Study No.:** 205160**Location in CTD:** 4.2.1.3 Safety Pharmacology
4.2.1.3.4

Species	Dog/Beagle 4M		
Feeding condition	Fed		
Vehicle/Formulation			
Analyte	Insulin degludec		
Assay	ELISA		
Method of Administration	i.v.		
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma		
Dose (nmol/kg)	4	8	12
Gender (M/F) / Number of animals	4M	4M	4M
Exposure(mean±SD):			
C_{60min} (nmol/L)	18.9±1.5	53.1±2.3	96.1±13.2
Additional Information: No toxicokinetics could be calculated in this safety pharmacology study Each animal was dosed with 3 ascending doses of insulin degludec (4, 8 and 12 nmol/kg) separated by 60 min.			

2.6.5.4 薬物動態：反復投与時における吸収

2.6.5.4.A マウス、4 週間 - 209388

Test Article: Insulin degludec

Species Mouse/Crl:CD1(ICR)
Feeding condition Fed

Study No.: 209388**Location in CTD:** 4.2.3.7.7. Other toxicity studies
4.2.3.7.7.2**Vehicle/Formulation****Method of Administration** Subcutaneous, once daily**Duration of treatment** 4 weeks**Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)** Serum**Analyte** Insulin degludec**Assay** ELISA

Dose (nmol/kg/day)		25		150/100^a		250/200/150^a	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 12	F / 12	M / 12	F / 12	M / 12	F / 12
PK parameters:							
C_{max} (nmol/L)	Day 1	25.0	24.4	151	135	301	248
	Day 28	34.6	28.8	134	134	225	164
t_{max} (h)	Day 1	1	1	1	3	1	1
	Day 28	1	1	1	1	1	1
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	85.1	82.2	658	624	1380	1160
	Day 28	90.4	103	393	466	778	587
t_{1/2} (h)	Day 1	NR	3.2	3.3	2.8	2.7	3.0
	Day 28	6.0	4.4	4.3	3.9	3.6	2.8
Accumulation factor (Day 1 to Day 28)		1.1	1.3	0.90 ^b	1.1 ^b	0.94 ^b	0.84 ^b

a – Due to hypoglycaemia, on Day 7 the high dose was lowered to 200 mg/kg/day and on Day 18 the high and mid dose was lowered to 150 and 100 mg/kg/day, respectively.

b – Calculated based on dose-normalized AUC_{0-24h} as mid and high doses were lowered on Day 18.

Additional information: PK parameters for the mouse calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=2 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.B マウス、13 週間 - 209479

Test Article: Insulin degludec

Species Mouse/Crl:CD1(ICR)

Feeding condition Fed

Study No.: 209479

Location in CTD: 4.2.3.7.7. Other toxicity studies
4.2.3.7.7.3

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

3 months

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		15		40		75	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 12	F / 12	M / 12	F / 12	M / 12	F / 12
PK parameters:							
$C_{\max}$ (nmol/L)	Day 1	24.4	21.3	54.2	55.0	98.6	86.8
	Week 13	28.5	33.0	74.1	130	133	135
$t_{\max}$ (h)	Day 1	1	1	1	1	1	1
	Week 13	1	1	1	1	1	1
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	55.8	58.8 ^a	188	175	312	265
	Week 13	53.0	65.9	180	267	362	337
$t_{1/2}$ (h) ^b	Day 1	4.3	1.4	NR ^c	NR ^c	3.4	NR ^c
	Week 13	7.1	5.1	NR ^c	NR ^c	NR ^c	NR ^c
Accumulation factor (Day 1 to Week 13)		0.95	1.1 ^a	0.96	1.5	1.2	1.3

a – based on AUC_{0-12h} as 24h sample not available.b – it should be noted that the terminal $t_{1/2}$ was not deemed to be adequately determined in this study and should hence be interpreted with caution.c – $R^2 < 0.85$ for linear regression, so $t_{1/2}$ not reported.**Additional information:** PK parameters for the mouse calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=2 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.C ラット、2 週間 - 204316

Test Article: Insulin degludec

Species Rat/Wistar
Feeding condition Fed

Study No.: 204316
Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
 4.2.3.2.1

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily
Duration of treatment 2 weeks
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Plasma
Analyte Insulin degludec
Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		37.5		75		150		300	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 8	F / 8	M / 8	F / 8	M / 8	F / 8	M / 8	F / 8
PK parameters:									
C_{max} (nmol/L)	Day 1	66.6	92.5	106	991	147	594	842	927
	Week 2	41.5	70.2	89.9	81.9	199	284	433	319
t_{max} (h)	Day 1	0.5	2.0	2.0	1.5	2.0	1.0	1.0	1.0
	Week 2	2.0	1.5	2.0	2.0	1.5	2.0	1.5	6.0
AUC (h × nmol/L)	Day 1	361	388	542	917	960	1850	3980	5360
	Week 2	368	325	626	820	1520	1830	3400	3170
t_{1/2} (h)	Day 1	3.1	3.0	3.2	3.2	3.9	3.4	2.9	3.5
	Week 2	4.4	3.5	4.8	4.9	6.3	4.3	5.4	5.3
CL/f (L/h/kg)	Day 1	0.104	0.097	0.138	0.082	0.156	0.081	0.075	0.056
	Week 2	0.102	0.115	0.120	0.091	0.099	0.082	0.088	0.095
Accumulation factor		1.02	0.84	1.16	0.89	1.57	0.99	0.85	0.59
Bioavailability (%)^a		104	112	78	132	69	133	143	193

a – i.v. data described in module 2.6.5.3.F

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite serum concentration versus time profiles (n=1 animal/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.D ラット、4 週間 -205239

Test Article: Insulin degludec

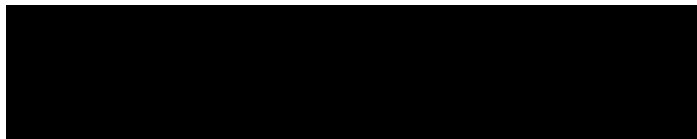
Species Rat/Wistar

Feeding condition Fed

Study No.: 205239

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
4.2.3.2.5

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily

Duration of treatment 4 weeks

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Plasma

Analyte Insulin degludec

Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		25		150		250	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9
PK parameters:							
C _{max} (nmol/L)	Day 1	35.5	43.2	285	295	380	443
	Week 4	45.0	49.3	187	255	426	595
t _{max} (h)	Day 1	1	1	3	3	3	3
	Week 4	1	1	3	3	3	3
AUC (h × nmol/L)	Day 1	199	230	1610	1720	2450	2910
	Week 4	244	265	1330	1450	2920	3200
t _½ (h)	Day 1	3.5	3.7	3.2	2.9	2.9	2.7
	Week 4	2.4	2.3	2.8	2.3	2.0	2.1
CL/F (L/h/kg)	Day 1	0.126	0.108	0.093	0.087	0.102	0.086
	Week 4	0.103	0.094	0.113	0.103	0.086	0.078
Accumulation factor		1.2	1.2	0.82	0.84	1.2	1.1

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.E ラット、13 週間 -- 206538

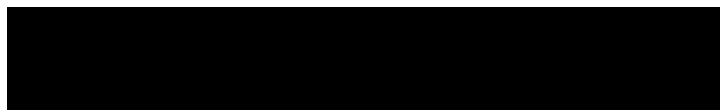
Test Article: Insulin degludec

Species Rat/Sprague Dawley
Feeding condition Fed

Study No.: 206538

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
 4.2.3.2.2

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily

Duration of treatment 3 months

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum

Analyte Insulin degludec

Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		100		200	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 12	F / 12	M / 12	F / 12
PK parameters:					
C_{max} (nmol/L)	Day 1	235	204	510	586
	Week 11	348	424	826	890
t_{max} (h)	Day 1	3	3	3	3
	Week 11	3	3	3	3
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	1260	1160	2530	2760
	Week 11	2380	2110	7770	6580
t_½ (h)	Day 1	2.7	3.0	2.8	2.6
	Week 11	3.9	3.7	4.8	3.8
Accumulation factor (Day 1 to Week 11)		1.9	1.8	3.2	2.4

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.F ラット、26 週間 - 206315

Test Article: Insulin degludecSpecies **Rat/Wistar**

Study No.: 206315

Feeding condition **Fed****Location in CTD:** 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
4.2.3.2.6

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily

Duration of treatment 6 months

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum

Analyte Insulin degludec

Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		20		50		125	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9
PK parameters:							
C_{max} (nmol/L)	Day 1	38.7	46.2	110	144	310	292
	Week 13	58.3	70.6	199	197	358	321
	Week 26	78.2	95.8	246	243	543	599
t_{max} (h)	Day 1	2	2	2	2	3	3
	Week 13	3	3	3	3	3	3
	Week 26	3	3	3	3	3	3
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	207	226	488	505	1480	1460
	Week 13	511	473	1120	897	2810	2470
	Week 26	544	548	1430	1150	3290	3370
t_{1/2} (h)	Day 1	4.0	3.8	3.2	3.5	3.1	2.9
	Week 13	2.4	3.8	4.4	3.8	4.5	1.9
	Week 26	2.6	3.8	3.7	3.5	3.9	NR
Accumulation factor (Day 1 to Week 26)		2.6	2.4	2.9	2.3	2.2	2.3

NR – not reported ($R^2 < 0.85$)**Additional information:** PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.G ラット、52 週間 - 206539

Test Article: Insulin degludec

Species Rat/Sprague Dawley

Feeding condition Fed

Study No.: 206539

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
4.2.3.2.7

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

12 months

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		20		65/50/40 ^a		100/80/60 ^a	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 20	F / 20	M / 20	F / 20	M / 20	F / 20
PK parameters:							
C_{max} (nmol/L)	Day 1	56.6	46.6	179	178	233	241
	Week 25	50.5	71.3	153	174	197	240
	Week 52	36.5	61.6	72.0	109	111	135
t_{max} (h)	Day 1	1	1	3	1	3	3
	Week 25	3	1	3	3	3	3
	Week 52	3	3	3	3	3	1
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	248	224 ^b	859	974	1290	1310
	Week 25	465	434	1300	1020	1450	1210
	Week 52	399	372	768	707	1000	766
t_{1/2} (h)	Day 1	2.6	NR	2.6	2.6	2.9	2.7
	Week 25	4.6	3.6	3.5	3.1	4.0	3.2
	Week 52	5.3	3.6	5.2	3.8	4.7	4.0
Accumulation factor (Day 1 to Week 25)		1.9	1.6 ^c	2.0	1.4	1.4	1.2
Accumulation factor (Day 1 to Week 52)		1.6	1.4 ^c	1.5	1.2	1.3	1.0

a – Doses lowered on day 76 and again on day 225 due to hypoglycaemia related mortality

b – AUC_{0-9h}

c – AUC_{0-9h} used for ratio calculation but not shown for Week 25 and 52.

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=4 animals/timepoint/sex/group). Accumulation factor was calculated using dose-normalized exposure data as doses had to be adjusted during the study.

2.6.5.4.H ラット、生殖毒性、反復投与- 206075

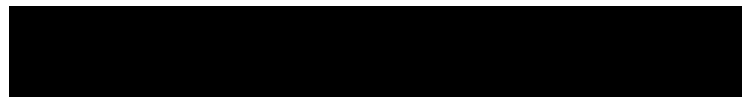
Test Article: Insulin degludec

Species Rat/Wistar
Feeding condition Fed

Study No.: 206075

Location in CTD: 4.2.3.5.1 Fertility and early embryonic development 4.2.3.5.1.1

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily
Duration of treatment 2 weeks + 17 days after pairing (4 weeks)
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum
Analyte Insulin degludec
Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		25	100	150
Gender (M/F) / Number of animals		F / 8	F / 8	F / 8
PK parameters:				
C_{max} (nmol/L)	Day 17 a. pairing	30.9	101	192
t_{max} (h)	Day 17 a. pairing	3	3	3
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 17 a. pairing	146 ^a	575	1160
t_½ (h)	Day 17 a. pairing	2.5	3.5	3.1

a – AUC_{0-9 h}

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=2 animals/timepoint/group)

Study No.: 208335

Location in CTD: 4.2.3.5.3 Prenatal and postnatal development 4.2.3.5.3.1

Species

Rat/Wistar

Feeding condition

Fed

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

2 weeks

Sample matrix

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose IDeg (nmol/kg/day)	20		80		125	
Gender (M/F) / Number of animals	3F	4F	4F	3F	4F	4F
Serum exposure (nmol/L) on Day 20 after mating:	3 h	9 h	3 h	9 h	3 h	9 h
Mean	12.9	1.94	164	9.84	220	24.5
SD	14.7	0.251	16.1	2.77	9.80	8.10

Additional information: None

Study No.: 208336

Location in CTD: 4.2.3.5.3 Prenatal and postnatal development 4.2.3.5.3.2

Species

Rat/Wistar

Feeding condition

Fed

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

2 weeks

Sample matrix

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Additional information: None

Additional information: None

2.6.5.4.K ラット、1 週間ブリッジング試験- 206016

Test Article: Insulin degludec

Species Rat/Wistar

Study No.: 206016

Feeding condition Fed

Location in CTD: 4.2.2.2 Absorption
4.2.2.2.1

Vehicle/Formulation

Method of Administration Subcutaneous, once daily

Duration of treatment 7 days

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum

Analyte Insulin degludec

Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		25				150				250			
Gender (M/F) / Number of animals		M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9
PK parameters:													
$C_{\max}$ (nmol/L)	Day 1	51.8	51.1	41.9	48.8	327	369	230	298	423	475	307	403
	Day 7	59.4	76.5	42.9	49.6	338	361	215	277	531	520	308	411
$t_{\max}$ (h)	Day 1	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	Day 7	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
AUC (h × nmol/L)	Day 1	222	183	204	208	1360	1560	1470	1560	2850	2700	2700	2790
	Day 7	248	239	223	230	1490	1580	1460	1560	2920	2510	2380	2530
$t_{1/2}$ (h)	Day 1	2.06	1.83	2.43	2.17	2.09	2.24	2.34	2.77	3.73	2.73	4.92	3.49
	Day 7	3.81	3.87	3.52	3.63	2.99	2.91	3.21	2.90	2.97	2.80	3.45	3.05
CL/F (L/h/kg)	Day 1	0.113	0.137	0.123	0.120	0.110	0.096	0.102	0.096	0.088	0.093	0.093	0.090
	Day 7	0.102	0.106	0.114	0.110	0.103	0.098	0.104	0.097	0.086	0.100	0.106	0.099
Accumulation factor		1.2	1.4	1.2	1.2	1.2	1.1	1.2	1.2	1.4	1.1	1.4	1.2

Additional Information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group)

Study No.: 210227

Location in CTD: 4.2.3.7.6 Impurities
4.2.3.7.6.1

Species Rat/Wistar

Feeding condition	Fed
-------------------	-----

Vehicle/Formulation

Method of Administration	Subcutaneous, once daily
---------------------------------	--------------------------

Duration of treatment	1 month
------------------------------	---------

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum

Analyte	Insulin degludec
----------------	------------------

Assay ELISA

NR – Not reported $R^2 < 0.85$

Additional information: PK parameters for the rat calculated based on composite mean serum concentration versus time profiles (n=3 animals/timepoint/sex/group)

2.6.5.4.M ウサギ、2 週間 - 206072

Test Article: Insulin degludec

Species Rabbit/New Zealand White

Feeding condition Fed

Study No.: 206072

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose

Toxicology 4.2.3.2.3

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

2 weeks

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		25	30	50	75
Gender (M/F) / Number of animals		F / 4	F / 4	F / 4	F / 4
PK parameters:					
C_{max} (nmol/L)	Day 1	112±13	150±70	255±33	344±26
	Week 2	130±15	176±61	315±43	-
t_{max} (h)	Day 1	6 (6-9)	6 (6-9)	6 (6-9)	6 (3-9)
	Week 2	6 (3-6)	6 (6-9)	6 (6-9)	-
AUC (h × nmol/L)	Day 1	1940±420	2940±200	4150±850	6790±115
	Week 2	2420±640	3880±450	6970±550	-
t_½ (h)	Day 1	9.0 (8-12)	11 (10-12)	8.0 (7-9)	10 (7-13)
	Week 2	9.7 (7-12)	13 (10-18)	11 (10-12)	-
Accumulation factor		1.3±0.1	1.3±0.2	1.7±0.1	-

Mean±SD/ Median (range)

Additional information: Dosing of 75 nmol/kg/day was stopped before Week 2, therefore only Day 1 data available

2.6.5.4.N ウサギ、生殖毒性 反復投与- 206073

Test Article: Insulin degludec

Species Rabbit/New Zealand White
Feeding condition Fed

Study No.: 206073

Location in CTD: 4.2.3.5.2 Embryo-foetal development 4.2.3.5.2.1

Vehicle/Formulation

Method of Administration Subcutaneous, once daily
Duration of treatment From Day 6 to 19 after mating
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum
Analyte Insulin degludec
Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		5	15	25
Gender (M/F) / Number of animals		F / 6	F / 6	F / 6
PK parameters:				
C_{max} (nmol/L)	Day 6	20.1±6.8	78.2±10.5	122±33
	Day 19	29.1±4.4	95.2±14.7	155±26
t_{max} (h)	Day 6	6 (3-9)	4.5 (3-9)	6 (3-6)
	Day 19	6 (6-6)	4.5 (3-6)	3 (3-6)
AUC_{0-24h} (h × nmol/L)	Day 6	301±58	1010±318	1420±400
	Day 19	430±81	1240±440	2080±870
t_{1/2} (h)	Day 6	7.2 (6.6-7.6)	4.9 (3.7-8.2)	5.5 (3.9-6.7)
	Day 19	7.5 (6.2-8.8)	5.7 (3.8-8.2)	5.4 (3.9-8.7)
Accumulation factor		1.4 (1.0-2.5)	1.2 (1.1-1.5)	1.4 (0.9-1.6)

Mean±SD except for t_{max} (Median (range)) and accumulation factor (Geometric mean (range)). In addition, t_{1/2} was calculated as ln2/mean λ_z (range).

Additional information: None

2.6.5.4.O イヌ、4日間（最大耐量（MTD）試験, 用量漸増試験） - 204317

Test Article: Insulin degludec

Species Dog/Beagle

Feeding condition Fed

Vehicle/Formulation

Study No.: 204317

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose
Toxicology 4.2.3.2.4

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

4 days – MTD Phase I (dose escalation)

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Plasma

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		1.5		3.0		6.0 ^d		12 ^b		18 ^b		28.2 ^c		30.0 ^{c, #}	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 1	F / 1	M / 1	F / 1	M / 1	F / 1	M / 1	F / 1	M / 1	F / 1	M / 1	F / 1	M / 1	F / 1
PK parameters:															
C_{max} (nmol/L)	Day 1	4.08	4.39	5.96	4.26	28.3	15.9	30.7	43.7	-	-	-	-	0.916	42.3
	Day 4	3.79	3.95	8.95	7.94	-	-	-	-	44.3	65.4	40.9	34.5	-	-
t_{max} (h)	Day 1	5	2	5	2	5	5	2	1.5	-	-	-	-	2	5
	Day 4	5	2	5	2	-	-	-	-	2	2	1	8	-	-
AUC (h × nmol/L)	Day 1	39.6	35.6	77.9	50.4	179	140	371	240	-	-	-	-	14.8	814
	Day 4	37.1	32.5	94.6	69.2	-	-	-	-	620	395	891	742	-	-
t_½ (h)	Day 1	4.5	4.1	5.1	5.0	3.7	4.0	7.1	3.3	-	-	-	-	9.4	10
	Day 4	4.7	4.4	5.0	4.0	-	-	-	-	5.6	4.7	20	19	-	-
F (%)^a	Day 1	79	104	77	73	89	102	92	87	-	-	-	-	1.5	81
Accumulation factor		0.94	0.91	1.2	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Additional information: AUC_{0-24h} were not calculated

a – i.v. data presented in module 2.6.5.3.F

b – Because of a lower response than expected after 2 days of dosing , the dose was increased from 12 to 18 nmol/kg on dosing day 3 and 4.

c - Because of a lower response than expected after 2 days of dosing , the dose was planned to be increased from 24 to 36 nmol/kg on dosing day 3 and 4 – however due to formulation failure the actual doses given were 30.0 and 28.2 nmol/kg on Days 1-2 and Days 3-4, respectively.

d - Since the same animals were used for all dose levels, some Day 4 samples were not taken in order to reduce total sampled blood volume.

- Male dog was misdosed.

2.6.5.4.P イヌ、2週間（MTD試験, 用量固定試験） - 204317

Test Article: Insulin degludec

Species Dog/Beagle

Feeding condition Fed

Study No.: 204317

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose

Toxicology 4.2.3.2.4

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

2 weeks – MTD Phase II (fixed dose)

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Plasma

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		12 ^a	18 ^a	24 ^a
Gender (M/F) / Number of animals		M/2 + F/2	M/2 + F/2	M/2 + F/2
PK parameters:				
C_{max} (nmol/L)	Day 1	39.7±5.4	26.6±17.8	30.7±20.5
	Week 2	41.8±2.9	42.1±3.7	-
t_{max} (h)	Day 1	4±2	4±2	4±4
	Week 2	5±0	4±2	-
AUC (h × nmol/L)	Day 1	404±67	423±304	515±354
	Week 2	484±107	620±194	-
t_{1/2} (h)	Day 1	4.5±0.4	13±9	12±7
	Week 2	5.9±1.8	8.7±1.6	-
Accumulation factor		1.2±0.1	1.1±0.1	-

Mean±SD

a – Because 24 and 18 nmol/kg was not tolerated after repeated administration (weeks 1 and 2), the dose was adjusted to 12 nmol/kg and followed for 2 weeks.

Additional information: None

2.6.5.4.Q イヌ、4週間 - 205238

Test Article: Insulin degludec

Species Dog/Beagle

Feeding condition Fed

Study No.: 205238

Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose
Toxicology 4.2.3.2.8

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous, once daily

Duration of treatment

4 weeks

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Plasma

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)		4		8		12	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 3	F / 3	M / 3	F / 3	M / 3	F / 3
PK parameters:							
C _{max} (nmol/L)	Day 1	5.62	4.44	7.88	9.53	10.3	14.9
	Week 4	5.31	6.23	9.69	10.1	13.9	19.2
t _{max} (h)	Day 1	4	2	6	3	3	6
	Week 4	3	3	3	5	5	5
AUC (h × nmol/L)	Day 1	60.7	35.8	125	93.2	163	200
	Week 4	60.9	65.7	124	134	222	198
t _{1/2} (h)	Day 1	4.3	3.7	6.9	5.1	8.8	4.5
	Week 4	7.3	6.0	9.4	7.4	8.6	6.9
CL/F (L/h/kg)	Day 1	0.069	0.114	0.064	0.087	0.074	0.060
	Week 4	0.068	0.062	0.069	0.061	0.054	0.088
Accumulation factor		1.0	1.9	1.4	1.3	1.4	1.3

Mean (SD were not calculated)

Additional information: None

2.6.5.4.R イヌ、26 週間 - 206314

Test Article: Insulin degludec

species Dog/Beagle Study No.: 206314
 Feeding condition Fed Location in CTD: 4.2.3.2 Repeat-dose Toxicology
 4.2.3.2.9

Vehicle/Formulation



Method of Administration Subcutaneous, once daily

Duration of treatment 6 months

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.) Serum

Analyte Insulin degludec

Assay ELISA

Dose (nmol/kg/day)		4		8		12/10/8 ^b	
Gender (M/F) / Number of animals		M / 4	F / 4	M / 4	F / 4	M / 4	F / 4
PK parameters:							
C _{max} (nmol/L)	Day 1	6.83±0.68	6.67±0.52	12.0±2.8	9.67±2.8	10.9±NC	11.8±1.5
	Week 13	8.68±1.69	9.80±2.85	14.7±3.8	13.9±2.8	18.0±3.3	21.0±4.8
	Week 26	8.71±2.00	11.1±1.2	22.8±8.6	14.1±5.8	13.6±1.5	15.9±0.5
t _{max} (h)	Day 1	5.3±1.5	6.8±1.5	6.0±0.0	6.8±1.5	6.0±NC	8.0±2.0
	Week 13	4.0±2.0	6.0±0.0	6.8±2.0	2.3±2.5	5.3±4.0	2.8±2.4
	Week 26	4.8±2.5	4.3±2.9	6.0±0.0	6.0±0.0	5.0±1.7	6.8±2.0
AUC _{0-24h} (h × nmol/L)	Day 1	71.3±8.9	77.4±5.1	130±15	118±12	139±36	182±5
	Week 13	88.3±8.4	101±14	197±9	169±35	282±NC	262±32
	Week 26	112±19	130±25	278±29	195±43	231±19	224±17
CL/F (L/h/kg)	Day 1	0.055±0.007	0.050±0.004	0.057±0.007	0.063±0.012	0.071±NC	0.062±0.007
	Week 13	0.046±0.004	0.040±0.006	0.041±0.002	0.049±0.011	0.040±0.009	0.039±0.005
	Week 26	0.036±0.006	0.032±0.007	0.029±0.003	0.043±0.010	0.035±0.003	0.036±0.003
t _{1/2} (h) ^a		NR	NR	NR	NR	NR	NR
Accumulation factor (Day 1 to Week 26)		1.6±0.2	1.6±0.3	2.1±0.3	1.7±0.6	2.8±NC	1.9±0.2

Mean±SD

a – NR – not reported, t_{1/2} could not be estimated adequately in this study due to too few time points in the terminal phase

b – Dose level in high dose group (12 nmol/kg/day) was gradually reduced from 12 to 8 nmol/kg/day during the study due to clinical findings. At Week 13 10 nmol/kg/day was administered and at Week 26 8 nmol/kg/day was administered.,

NC: Not calculated

2.6.5.4.S イヌ、1 週間（ブリッジング試験） - 206015

Test Article: Insulin degludec

Species Dog/Beagle

Feeding condition Fed

Study No.: 206015

Location in CTD: 4.2.2.2 Absorption
4.2.2.2.3

Vehicle/Formulation

Method of Administration

Subcutaneous

Duration of treatment

1 week, once daily

Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)

Serum

Analyte

Insulin degludec

Assay

ELISA

Dose (nmol/kg/day)	2				4				8				12			
Formulation																
Gender (M/F) / Number of animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
PK parameters (Day 8):																
C _{max} (nmol/L)	5.36 ±0.30	5.34 ±0.11	4.43 ±0.68	4.65 ±0.31	7.89 ±1.61	8.05 ±0.82	6.93 ±1.87	9.09 ±1.31	14.7 ±4.0	11.4 ±1.7	9.56 ±0.54	15.2 ±5.9	18.6 ±15.0	32.6 ±17.1	12.9 ±0.7	16.9 ±5.6
t _{max} (h)	3±0	3±0	4±2	5±2	5±2	4±3	6±0	4±3	4±2	5±2	6±0	4±3	2±2	3±3	4±5	6±0
AUC _{0-24h} (h × nmol/L)	38.3 ±3.0	40.3 ±0.3	47.1 ±1.4	48.7 ±0.4	70.0 ±4.4	77.3 ±7.9	72.6 ±16.2	90.6 ±1.9	168 ±30	129 ±11	128 ±6	133 ±27	166 ±138	262 ±30	153 ±25	198 ±32
t _{1/2} (h)	3.7 ±0.3	3.5 ±0.1	3.8 ±0.2	3.5 ±0.2	3.5 ±0.4	3.7 ±0.6	4.2 ±0.1	4.8 ±0.9	4.4 ±0.9	4.9 ±1.5	6.4 ±1.9	4.8 ±0.9	3.1 ±1.7	5.5 ±2.5	6.5 ±3.9	6.5 ±2.3

Mean±SD

Additional information: All data are in steady-state. No s.c. blood samples were taken on Day 1 as animals were dosed i.v. for the first dose. I.v. data are presented in module [2.6.5.3.F](#)

2.6.5.5 薬物動態：組織分布

2.6.5.5.A 組織分布、Wister 系ラット- 207366

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin 454: A study of distribution, by quantitative whole-body autoradiography, following subcutaneous administration to the rat**Study Number:** 207366**Location in CTD:** 4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.1

Species	Rat/Wistar (CrI:WI (Han) strain)
Gender (M/F) / Number of animals:	12M (3M per time point)
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	
Method of Administration:	Subcutaneous
Dose (nmol/kg):	25
Radionuclide:	³ H
Specific Activity:	1.9 MBq/nmol, equivalent to 51 µCi/nmol
Sampling time:	0.5 2, 5 and 8 h post dose
Analyte/Assay (unit):	Radioactivity was measured under appropriate conditions to allow accurate quantification using a gamma counter ^b

	Concentration (pmol equivalents/g) ^b			
Sampling times post dose	0.5 h Mean±SD	2 h Mean±SD	5 h Mean±SD	8 h Mean±SD
Tissues/organs ^a				
Plasma ^c	14.0±3.3	35.3±3.3	37.0±8.7	26.7±9.1
Blood	11.4±2.2	24.9±3.9	22.9±7.8	12.6±5.1
Kidney cortex	8.71±2.00	63.2±23.5	114±28.7	98.3±16.5
Kidney medulla	5.23±1.50	13.3±4.6	13.4±2.2	8.92±4.66
Liver	4.46±0.38	20.8±7.6	52.8±5.5	68.7±9.4
Lung	6.99±1.78	14.8±4.7	13.4±4.5	9.44±6.13
Pituitary	1.80±0.16	9.28±3.33	5.28±1.63	2.64±0.93
Thyroid	2.10±0.53	11.0±4.8	4.10±0.66	2.41±0.86

	Concentration (pmol equivalents/g) ^b			
Salivary glands	2.44±0.34	7.22±2.24	4.31±1.29	3.60±2.18
Bulbo-urethral gland	3.86±NA ^d	11.3±3.4	10.3±4.4	7.69±4.97
Epididymis	0.520±0.065	4.29±0.72	6.24±1.70	6.82±7.31
Myocardium	2.98±1.03	8.59±1.77	6.59±1.77	4.17±2.68
Tongue	1.50±0.04	7.38±3.07	5.79±1.65	3.90±0.71
Pancreas	3.79±1.71	7.33±1.89	5.70±1.28	3.60±2.27
Periosteum	0.738±0.646	10.9±9.7	3.20±0.21	1.82±0.93
Tooth pulp	5.72±0.70	20.8±8.5	22.1±7.9	13.6±6.5
Uveal tract	1.58±0.65	7.44±1.51	7.30±1.25	3.84±1.13
Oesophagus wall	2.17±1.39	10.2±3.4	6.10±1.39	5.68±5.12
Stomach mucosa (fundus)	2.03±1.30	7.47±0.76	6.42±1.21	3.21±2.22
Caecum mucosa	0.895±0.364	4.30±0.82	2.00±3.47	6.75±2.14
Rectum mucosa	1.75±NA ^d	6.55±1.74	5.73±2.09	3.58±2.29

a – The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Plasma and blood are added for comparison (see “Additional Information” below)

b – Limit of detection: The upper limit of quantification was 388 pmol equiv/g and the lower limit of quantification was 0.433 pmol equiv/g

c – Plasma concentration of radioactivity determined by liquid scintillation counting

d –:Not appropriate (NA) because that one or more sample were not sectioned.

Additional Information:

The following tissues/organs were analysed but not listed in the table above; mandibular lymph nodes, brain, choroid plexus, meninges, pineal body, spinal cord, adrenal, thymus, exorbital lachrymal gland, harderian gland, intra-orbital lachrymal gland, brown fat, white fat, preputial gland, prostate, seminal vesicles, testis, muscle, stomach mucosa (non-fundic), small intestine mucosa, large intestine mucosa, bone marrow, nasal mucosa and spleen.

2.6.5.5.B 組織分布、Sprague-Dawley 系ラット- 204209

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec

Report Title: [¹²⁵ I]-O454: A study of distribution in the rat after intravenous dosing by quantitative whole-body autoradiography		Study Number: 204209
		Location in CTD: 4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.2
Species	Rat/Sprague-Dawley (CrI:CD®(SD)IGSBR strain)	
Gender (M/F) / Number of animals:	6F (3F per time point)	
Feeding condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:		
Method of Administration:	Intravenous	
Dose (nmol/kg):	6	
Radionuclide:	¹²⁵ I	
Specific Activity:	174 kBq/nmol, equivalent to 4.7 µCi/nmol	
Sampling time:	5, 10 and 20 minutes post dose	

	Concentration (pmol equivalents /g) ^b		
Sampling times post dose	5 min (mean)	10 min (mean)	20 min (mean)
Tissues/organs^a			
Plasma ^c	128	107	89.3
Blood	58.7	52.9	38.4
Kidney cortex (inner)	21.9	23.5	18.3
Kidney cortex (outer)	36.5	49.8	48.8
Kidney medulla	26.4	24.5	18.9
Liver	20.7	15.5	11.3
Lung	36.8	33.4	24.9
Aorta	37.7	34.3	29.5
Pineal body	11.5	13.2	12.4
Adrenal	31.2	17.0	11.7
Adrenal cortex	31.1	16.8	11.3

	Concentration (pmol equivalents /g) ^b		
Adrenal medulla	36.2	29.0	17.1
Thyroid	15.4	18.2	43.2
Intra-orbital lachrymal gland	12.0	11.9	10.5
Salivary gland	18.4	17.3	17.8
Ovary	29.3	19.8	20.3
Myocardium	20.0	17.3	15.4
Nasal mucosa	4.18	6.78	13.9
Pancreas	15.3	14.2	11.5
Tooth pulp	15.5	14.7	19.1
Oesophagus wall	15.9	14.3	10.5
Stomach mucosa (fundus)	9.58	10.0	11.8

Mean (SD were not calculated)

a – The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Plasma and blood are added for comparison (see “Additional Information” below)

b – Limit of detection: Upper limit of quantification = 81.0 pmol equiv/g and lower limit of quantification = 0.149 pmol equiv/g

c – Plasma concentration of radioactivity determined by gamma counting methods. Limit of detection: 0.015 pmol equiv/g

Additional Information:

The following tissues/organs were analysed but not listed in the table above; mandibular lymph nodes, brain, choroid plexus, meninges, spinal cord, pituitary, thymus, exorbital lachrymal gland, harderian gland, brown fat, white fat, clitoris, mammary tissue, uterus, muscle, tongue, lens, uveal tract, stomach mucosa (non-fundic), small intestine mucosa, caecum mucosa, large intestine mucosa, rectum mucosa, bone marrow, epimysium, periosteum, skin, spleen and trachea.

Report Title: [¹²⁵I]-NNC 100-0454: A study of distribution by quantitative whole-body autoradiography following intravenous administration to the Zucker *fa/fa* rat

Study Number: 205521

Location in CTD: 4.2.2.3 Distribution 4.2.2.3.3

Species	Rat/Zucker <i>fa/fa</i>
Gender (M/F) / Number of animals:	9M (3M per time point)
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	
Method of Administration:	Intravenous
Dose (nmol/kg):	6
Radionuclide:	¹²⁵ I
Specific Activity:	192 kBq/nmol, equivalent to 5.2 μCi/nmol
Sampling time:	5, 10 and 20 minutes post dose

	Concentration (pmol equivalents /g) ^b		
Sampling times post dose	5 min (mean±SD)	10 min (mean±SD)	20 min (mean±SD)
Tissues/organs ^a			
Plasma ^c	217±16	179±27	142±13
Blood	99.5±3.4 ^d	85.9±12.4 ^d	67.0±6.9 ^d
Kidney cortex (inner)	51.8±14.0	47.8±12.7	41.2±5.6
Kidney cortex (outer)	45.9±6.5	69.5±23.4 ^d	74.0±16.6 ^d
Kidney medulla	59.4±15.4 ^d	42.1±7.4	41.8±6.1
Liver	29.5±12.0	21.0±4.5	21.1±1.5
Lung	68.1±13.2 ^d	56.3±5.5	51.9±1.0
Aorta	58.7±22.7	38.6±17.5	28.9±3.3
Pineal body	40.7±1.3	36.8±NA ^e	22.9±2.3

	Concentration (pmol equivalents /g) ^b		
Adrenal	37.1±12.2	29.0±4.9	27.5±2.0
Pituitary	17.2±7.0	16.1±3.0	12.6±2.2
Thyroid	17.9±1.4	20.7±2.5	32.1±1.7
Exorbital lachrymal gland	15.9±1.0	16.3±2.4	14.5±2.8
Intra-orbital lachrymal gland	11.2±0.7	12.7±1.3	13.1±0.8
Salivary gland	12.2±2.1	10.9±2.4	13.2±2.2
Bulbo-urethral gland	20.3±NA ^c	17.7±NA ^c	19.5±NA ^c
Myocardium	29.4±5.6	23.8±2.1	22.1±2.1
Bone marrow	11.9±2.4	11.0±1.0	9.91±0.45
Pancreas	23.7±5.5	21.7±5.1	21.0±5.0
Spleen	12.1±NA ^c	16.7±4.0	12.1±0.6
Tooth pulp	23.5±4.2	23.9±3.1	23.7±3.0
Stomach mucosa (fundus)	13.0±1.3	10.8±0.9	10.1±1.3

a – The list represents the three major organs: liver, kidney, lung and 15 organs/tissues with the highest observed radioactivity. Plasma and blood are added for comparison (see “Additional Information” below)

b – Limit of detection: Upper limit of quantification = 72.2 pmol equiv/g and lower limit of quantification = 0.089 pmol equiv/g

c – Plasma concentration of radioactivity determined by gamma counting methods. Limit of detection: 0.033 pmol equiv/g

d – One or more individual measurements above limit of quantification

e –:Not appropriate (NA) because that one or more sample were not sectioned.

Additional Information:

The following tissues/organs were analysed but not listed in the table above; mandibular lymph nodes, brain, choroid plexus, meninges, spinal cord, thymus, hardierian gland, brown fat, inguinal fat, peri-renal fat, subcutaneous fat, epididymis, preputial gland, prostate, seminal vesicles, testis, muscle, tongue, non-pigmented skin, pigmented skin, lens, uveal tract, nasal mucosa, periosteum, stomach mucosa (non-fundic), small intestine mucosa, caecum mucosa, large intestine mucosa, rectum mucosa.

2.6.5.6 蛋白結合

2.6.5.6.A ラット、ウサギ、イヌ、ブタ及びヒト血漿中蛋白結合- 208378

Test Article: Insulin degludec

Report Title: Insulin 454: *In vitro* binding to rat, rabbit, pig, dog and human plasma proteins

Study Number: 208378

Location in CTD: 5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports
5.3.2.1.1

Study system: Surface plasmon resonance (SPR) biosensor technology was used to determine a dissociation constant, K_d , and percentage fraction unbound of insulin degludec in each species of plasma

Target entity: Insulin degludec, batch no. 179.454.07.2

Test system: Pooled EDTA plasma from at least five male and five female Wistar Hannover rats, Sprague Dawley rats, Beagle dogs and humans as well as from female New Zealand White rabbits and Landrace/Yorkshire/Duroc pigs

Method: SPR technology, using a Biacore T100 instrument, was used to investigate binding between insulin and plasma proteins. Insulin degludec was immobilised to flow cells of CM5 sensor chips. Plasma was passed over the flow cells in ten dilutions in the range of 0.1%-10%. Binding assays were run at 37°C. A kinetic analysis based on the 1:1 binding model was performed to determine the dissociation constant, K_d , and percentage fraction unbound of insulin in each pool of plasma.

Species	Gender	N	Plasma albumin K_d ($\mu\text{mol/L}$) ^a			Mean (Species)
			Mean	$\pm$	SD	
Rat (Wistar)	M	8	8.97	$\pm$	1.78	9.25
	F	8	9.92	$\pm$	1.46	
Rat (Sprague Dawley)	M	8	8.68	$\pm$	1.59	9.25
	F	8	9.42	$\pm$	1.56	
Rabbit (New Zealand White)	F	8	4.17	$\pm$	0.08	4.17
Pig (LYD)	F	8	13.06	$\pm$	4.06	13.1
Dog (Beagle)	M	8	5.99	$\pm$	0.25	6.38
	F	8	6.76	$\pm$	0.16	
Human	M	8	12.39	$\pm$	2.90	11.4
	F	8	10.44	$\pm$	2.16	

a – assuming all binding of insulin degludec in plasma was to albumin. Concentration of albumin was determined for each pool of plasma.

Additional Information: None

2.6.5.6.B ヒト血清アルブミン結合- 208523

Test Article: Insulin degludec**Report Title:** *In vitro* binding of insulin 454 to human albumin**Study Number:** 208523**Location in CTD:** 5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports
5.3.2.1.2**Study system:** Surface plasmon resonance (SPR) biosensor technology was used to determine a dissociation constant, K_d , of insulin degludec binding to human serum albumin**Target entity:** Insulin degludec, batch no. 179.454.07.2**Test system:** 96-99% human serum albumin and essentially fatty acid free human serum albumin**Metbod:** SPR technology, using a Biacore T100 instrument, was used to investigate binding between insulin and human serum albumin. Insulin degludec was immobilised to flow cells of CM5 sensor chips. Human serum albumin was passed over the flow cells in nine dilutions in the range of 0.05-50 g/l. Binding assays were run at 37°C. A kinetic analysis based on the 1:1 binding model was performed to determine the dissociation constant, K_d , of insulin degludec binding to human serum albumin.

Test system	N	Human serum albumin K_d ($\mu\text{mol/L}$)		
		Mean	$\pm$	SD
96-99% human serum albumin	8	32.39	$\pm$	6.46
Essentially fatty acid free human serum albumin	8	13.35	$\pm$	4.89

Additional Information: None

2.6.5.6.C ラット、ウサギ、イヌ、ブタ及びヒト血清アルブミン結合- CES 10 January-

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec**Report Title:** Insulin 454: Comparative study of binding to human, rat, porcine, rabbit and canine serum albumins**Study Number:** CES 10-January-**Location in CTD:** 5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports
5.3.2.1.3**Study system:** Human, rat, porcine, rabbit and canine serum albumin, fatty acid free, immobilised to MiniLeak Sepharose beads were used to determine a dissociation constant, K_d , of insulin degludec binding to serum albumins**Target entity:** ¹²⁵I-Tyr^{A14} Insulin degludec, batch 20A**Test system:** rat, rabbit, dog, pig and serum albumin (fatty acid free) immobilised to MiniLeak Sepharose beads**Metbod:** Samples comprising varying concentrations of immobilised serum albumin (0-5 $\mu\text{mol/L}$) with a fixed tracer concentration (~ 25 nCi/ml) of ¹²⁵I-insulin degludec were incubated for two hours. Following centrifugation, an aliquot were drawn from the supernatant to estimate free (F) and bound (B) tracer. The slope of a plot of B/F versus serum albumin concentration gave an estimate of the affinity of the tracer for serum albumin.

Test system	N	Essentially fatty acid serum albumin K_d ($\mu\text{mol/L}$)		
		Mean	$\pm$	SD
Rat serum albumin	3	0.56	$\pm$	0.14
Rabbit serum albumin	3	0.08	$\pm$	0.01
Pig serum albumin	3	0.25	$\pm$	0.01
Dog serum albumin	3	0.44	$\pm$	0.01
Human serum albumin	3	0.56	$\pm$	0.07

Additional Information: None

2.6.5.6.D ヒト血清アルブミン結合- CES 01-May- [REDACTED]

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec**Report Title:** Insulin 454: Binding to human serum albumins**Study Number:** CES 01-May- [REDACTED]**Location in CTD:** 5.3.2.1 Plasma Protein Binding Study Reports
5.3.2.1.4**Study system:** Human serum albumin, fatty acid free, immobilised to MiniLeak Sepharose beads were used to determine a dissociation constant, K_d , of insulin degludec and insulin detemir binding to serum albumins**Target entity:** ¹²⁵I-Tyr^{A14} Insulin degludec, batch 17A**Test system:** Human serum albumin (fatty acid free) immobilised to MiniLeak Sepharose beads**Metbod:** Samples comprising varying concentrations of immobilised serum albumin (0-5 μ mol/L) with a fixed tracer concentration (~50 nCi/ml) of ¹²⁵I-insulin degludec were incubated for two hours. Following centrifugation, an aliquot were drawn from the supernatant to estimate free (F) and bound (B) tracer. The slope of a plot of B/F versus serum albumin concentration gave an estimate of the affinity of the tracer for serum albumin.

Experiment	Essentially fatty acid serum albumin K_d (μ mol/L)		Affinity ratio (insulin detemir/insulin degludec)
	Insulin degludec	Insulin detemir	
1	0.4074	1.239	3.04
2	0.5031	1.163	2.31
3	0.3786	1.000	2.64
4	0.5777	1.255	2.17
Mean	0.4667 ^a	1.164 ^a	2.54
SD	0.0911 ^a	0.117 ^a	0.39

a – mean and SD of K_d for insulin degludec and insulin detemir were not calculated in the study report**Additional Information:** None

2.6.5.7 薬物動態：妊娠及び授乳期の動物での試験－ 208222

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec

Report Title: Insulin 454: Fetal exposure in the Han Wistar Rat by subcutaneous Administration

Study Number: 208222

Location in CTD: 4.2.2.3 Distribution
4.2.2.3.4

Species	Rat/Wistar
Feeding condition	Fed
Vehicle/Formulation	
Dose (nmol/kg/day)	125
Method of Administration	Subcutaneous, once daily
Duration of treatment	14 days (Day 6 to Day 20 after mating)
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Serum
Analyte	Insulin degludec
Assay	ELISA

Exposure on Day 20 after mating (mean ± SD)

Time point	3 h (N=4)	9 h (N=3 ^a)
Pregnant females (nmol/L)	378 ± 80.4	44.1 ± 12.8
Fetuses (nmol/L)	1.53 ± 0.64	0.356 ± 0.047
Exposure ratio (Pregnant females/fetuses)	247	124

a - one female died in necropsy on Day 20, hence no sample was obtained

Additional information: None

2.6.5.8 その他の分布試験

No studies performed

2.6.5.9.B ラットにおける代謝物（血漿） - 207309

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin 454: Metabolite Profiling of Plasma from the Male Wistar Rat Following Single Subcutaneous Administration**Study number:** 207309**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.2**Species:** Rat/Wistar (CrI:WI (Han) strain)**Gender (M/F) / Number of animals:** 12M +5F**Feeding condition:** Fed**Vehicle/Formulation:****Method of Administration:** Subcutaneous**Dose (nmol/kg):** Single doses of 25 and 250 nmol/kg**Radionuclide:** ³H**Specific Activity:** 44 and 440 kBq/nmol, equivalent to 1.2 and 12 µCi/nmol, respectively

Species	Samples	Dose (nmol/kg)	Sampling period	Sex	AUC _{0-12h} (%) ^a				AUC _{0-12h (-P1)} (%) ^b		
					Parent	P1	P2	P3	Parent	P2	P3
Rat	Plasma	25	0 – 12 h	Male	46	33	10	11	69	15	16
				Female	51	25	11	13	69	14	17
		250		Male	63	18	10	10	76	12	12

a – Ratio between AUC from the individual plasma components (parent/metabolites) and the total AUC multiplied by a factor of hundred. The AUC data is calculated from time points in the range 0-12 hours after administration

b – The same ratio as described in a) but after excluding component P1 from total AUC,

Additional Information: Component P1 is probably tritiated water formed as a consequence of general metabolism of the fatty acid side chain. P1 has been excluded in the calculations (AUC_{0-12h (-P1)}) because it is considered important to evaluate the exposure after excluding the exposure of the water product (radioactivity not related to the drug)

2.6.5.9.C イヌにおける代謝物（血清） - 207374

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin 454: A study of serum pharmacokinetics following subcutaneous and intravenous administration to the dog**Study number:** 207374**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.4**Species:** Dog/Beagle**Gender (M/F) / Number of animals:** 3M**Feeding condition:** Fed**Vehicles/Formulations:****Method of Administration:**

Subcutaneous and intravenous

Dose (nmol/kg):

Single doses of 4.0 nmol/kg

Radionuclide:³H**Specific Activity:**

1.8 and 1.6 MBq/nmol, equivalent to 50 and 44 µCi/nmol, respectively

Species	Samples	Route	Dose (nmol/kg)	Sampling period	Sex	AUC _{0-12h} (%) ^a					AUC _{0-12h (-S1)} (%) ^b			
						Parent	S1	S2	S3	S4	Parent	S2	S3	S4
Dog	Serum	Subcutaneous	4	0 – 30 h	Male	48	17	13	11	12	58	15	13	14
		Intravenous		0 – 12 h		64	7	9	11	10	68	9	12	10

a – Ratio between AUC from the individual plasma components (parent/metabolites) and the total AUC multiplied by a factor of hundred and rounded to the nearest integer. The AUC data is calculated from time points in the ranges 0-30 and 0-12 hours after subcutaneous and intravenous administration, respectively.

b – The same ratio as described in a) but after excluding component S1 from total AUC and rounded to the nearest integer.

Additional Information: Component P1 is probably tritiated water formed as a consequence of general metabolism of the fatty acid side chain. S1 has been excluded in the calculations (AUC_{0-12h (-S1)}) because it is considered important to evaluate the exposure after excluding the exposure of the water product (radioactivity not related to the drug)

2.6.5.9.D ラットにおける代謝物（血漿及び乳汁） - 210344

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin degludec: Metabolite Profile Analysis of Milk and Plasma from Lactating Rats Following Single Subcutaneous Administration**Study number:** 210344**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.7**Species:** Rat/Wistar (HsdHanTM) strain**Gender (M/F) / Number of animals:** 12F**Feeding condition:** Fed**Vehicle/Formulation:****Method of Administration:** Subcutaneous**Dose (nmol/kg):** Single dose of 25 nmol/kg**Radionuclide:** ³H**Specific Activity:** 458 MBq/mg, equivalent to 12.4 mCi/mg

Species	Samples	Dose and Sampling Period	% of total AUC _{0-8h} ^a							AUC _{0-8h} (nmol×h/L)						
			Parent	Mi1	Mi2	Mi3				Parent	Mi1	Mi2	Mi3			
Rat	Milk	25 nmol/kg / 0-8 h	26	46	26	2				19.9	34.4	19.8	1.44			
			Parent	P1	PL1	PL2	PL3	P2	P3	Parent	P1	PL1	PL2	PL3	P2	P3
	Plasma	25 nmol/kg / 0-8 h	49	21	1	1	4	8	15	65.2	28.7	1.47	1.35	5.61	11.2	20.2

a – Ratio between AUC from the individual plasma components (parent/metabolites) and the total AUC multiplied by a factor of hundred. The AUC data is calculated from time points in the range 0-8 hours after administration.

Additional Information: None

2.6.5.9 薬物動態：代謝（*in vivo* 試験）

2.6.5.9.A ラットにおける代謝物（尿、胆汁及び糞） - 206618

Test Article: [³H]-Insulin degludec

Report Title: [³ H]-NNC 0100-0000-0454: Investigation of Metabolites in the Wistar Rat Following Single Dose Administration		Study No: 206618 Location in CTD: 4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.1
Species:	Rat/Wistar (CrI:WI (Han) strain)	
Gender (M/F) / Number of animals:	3M	
Feeding condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:		
Method of Administration:	Subcutaneous	
Dose (nmol/kg):	25	
Radionuclide:	³ H	
Specific Activity:	370 GBq/mmol, equivalent to 10 Ci/mmol	

Species	Sample	Sampling Period	% of Dose in sample	% Compound of dose ^a											
Rat	Urine	0-72 h	32.9	Parent ND	U1 6.72	U2 6.19	U3 1.68	U4 5.46	U5 0.68	U6 1.58	U7 0.36	U8 1.94	U9 0.45	U10 3.62	
	Bile	0-24 h	11.5	Parent ^b 0.05	B1 1.82	B2a 0.16	B2b 0.56	B3a 0.07	B3b 0.54	B4 0.06	B5 0.41	B6 1.86	B7 1.37	B8 0.92	B9 0.10
	Feces	0-72 h	17.0	Parent ND	F1 4.18	F2 0.51	F3 1.22	F4 3.40	F5 0.52	F6 0.43	F7 1.08	F8 3.10	F9 0.13	F10 0.19	F11 0.58

a – Name of peak components (parent/metabolites) in radiochromatograms and their corresponding % of dose values

b – Same retention time as parent compound in HPLC analysis.

ND – not detected

Additional Information: None

2.6.5.10 薬物動態：代謝（*in vitro* 試験）

2.6.5.10.A 肝細胞を用いた種間比較- 207440

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin 454: Metabolism in rat, rabbit, dog and human hepatocytes, a cross-species comparison**Study No.:** 207440**Location in CTD:** 5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies
5.3.2.2.1**Study system:** Pools with cryopreserved hepatocytes from male Wistar rats (N=13), male Beagle dogs (N=3), female New Zealand white rabbit (N=3) and male and female humans (N=10) were used for incubations**Target entity:** [³H]-Insulin degludec batch 5S (3.4 TBq/mmol (93 Ci/mmol))**Method:** Hepatocyte suspensions were mixed with and incubated on 12-well plates coated with ovalbumin. The hepatocytes and test solution were mixed to obtain final concentrations of 1.0×10^6 cells/mL and 10 or 500 nmol/L [³H]-Insulin degludec. The hepatocyte solutions were incubated for 4 hours at 37°C followed by analysis with HPLC and radiochemical detection in order to obtain metabolite profiles

Species	Relative peak area (%)				Rat	Rabbit	Dog	Human
	Rat	Rabbit	Dog	Human				
Concentration (nmol/L)	10	10	10	10	500	500	500	500
Compounds								
Parent	6	26	72	13	7	33	20	54
H1	32	- ^a	9	29	18	1	17	12
H2	49	-	5	31	45	-	17	11
H3	-	-	-	1	1	-	-	1
H4	6	-	-	3	5	-	2	1
H5	3	-	-	-	3	-	2	-
H6a	-	-	3	-	3	-	8	-
H6b	-	-	-	-	1	-	2	-
H7a	-	-	-	-	3	-	4	-
H7b	-	-	2	-	1	-	1	-
H8	5	74	9	24	14	66	27	21

a – “–” not detected

Additional Information: None

2.6.5.10.B *In vitro* 代謝試験（カテプシン D） - 204244**Test Article:** [³H]-Insulin degludec**Report Title:** *In vitro* metabolic stability of Insulin 454 and human insulin after incubation with Cathepsin D**Study No.:** 204244**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.5

Study system:	<u>Insulin degludec</u>	<u>Human Insulin</u>	<u>Theoretical value</u>
Compounds (Molecular Weight g/mol)			
Insulin degludec	6103.2	- ^a	6104.1
Human Insulin	-	5806.3	5807.6
A¹⁻²¹ - B¹⁻²⁵	5218.1	5216.3	5216.9
A¹⁻²¹ - B¹⁻²⁴	5069.2	5069.6	5069.8
A¹⁻²¹ - B¹⁻²⁴ + H₂O (one peptide bond cleaved)	5087.3	5087.3	5087.8
B²⁵⁻²⁹ incl. glu-fatty acid side chain	905.8	-	906.1
B²⁵⁻³⁰	-	756.6	755.5

a – “-“ not applicable

Additional Information: None

2.6.5.11 薬物動態：推定代謝経路

2.6.5.11.A ラット血漿中代謝物の構造決定 - 209425

Test Article: [³H]-Insulin degludec**Report Title:** [³H]-Insulin 454: Structural Characterisation of Metabolites in Plasma from the Male Wistar Rat Following Single Subcutaneous Administration**Study No.:** 209425**Location in CTD:** 4.2.2.4 Metabolism
4.2.2.4.3

Species:	Rat/Wistar (CrI:WI (Han) strain)					
Gender (M/F) / Number of animals:	10M					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:						
Method of Administration:	Subcutaneous					
Dose (nmol/kg):	Single dose of 250 nmol/kg					
Radionuclide:	³ H					
Specific Activity:	215 TBq/mmol, equivalent to 5.8 Ci/mmol					
Components in plasma ^a	Insulin degludec		P2 ^b		P3 ^c	
	Observed	Theoretical	Observed	Theoretical	Observed	Theoretical
Molecular Weight (g/mol)	6104.1	6104.1	6104.2	6104.1	3724.4	3724.4
Monoisotopic Mass (g/mol)	6100.3	6099.8	6100.4	6099.8	3722.1	3721.9
Major structural fragments in CID^d (monoisotopic mass in g/mol)						
Y ₂ ⁺ ([Pro-Glu-fatty acid moiety] ⁺)	641.42	641.41	641.44	641.41	641.44	641.41
Y ₂ -18 ⁺	623.43	623.40	623.40	623.40	623.41	623.40
FY ⁺ ([Phe-Tyr] ⁺)	310.18	310.13	310.19	310.13	310.18	310.13

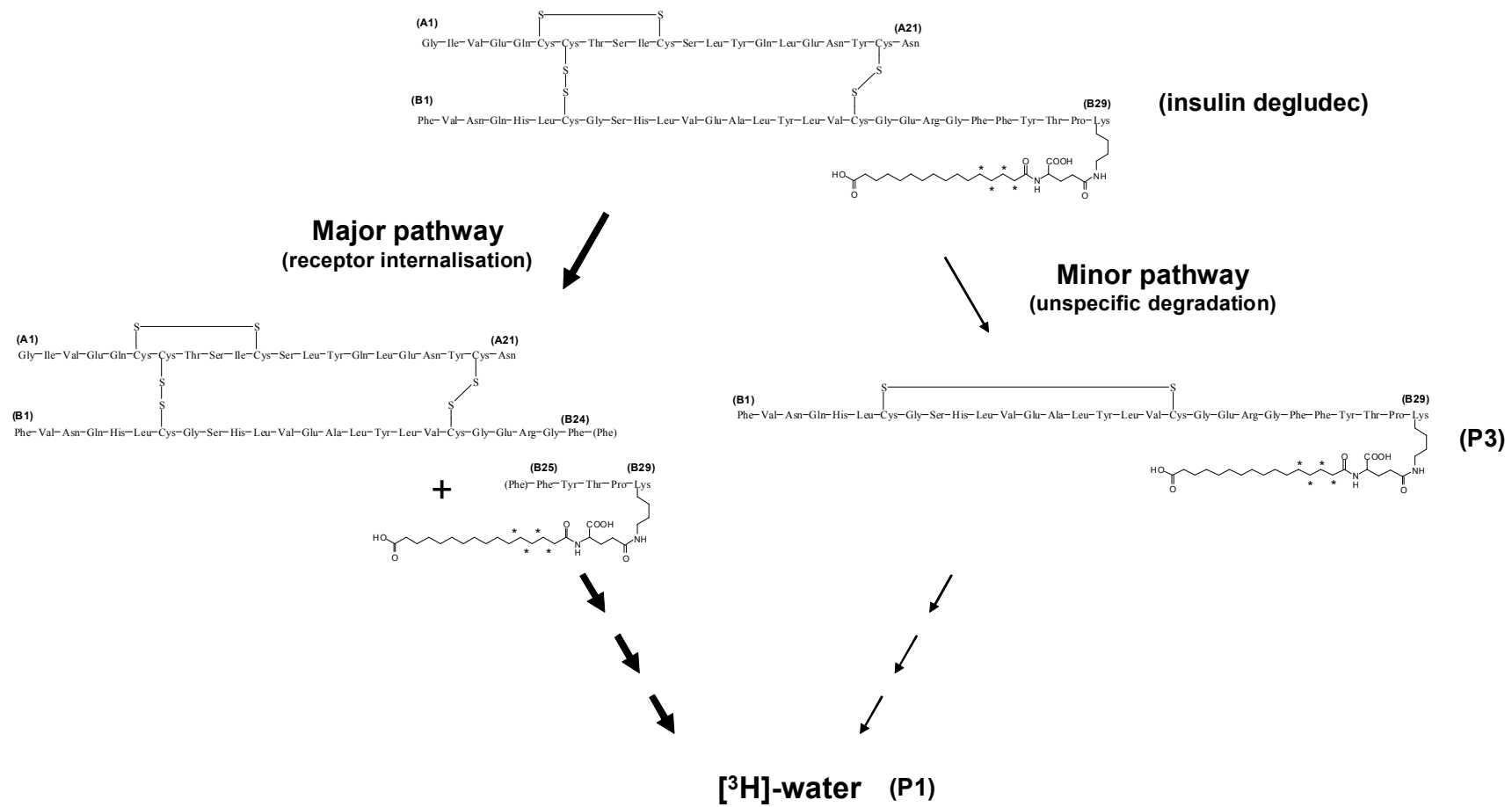
a – P1 (tritiated water component) was not selected for structural characterisation in this study

b – Theoretical masses from product with the same molecular weight as insulin degludec

c – Theoretical masses from B-chain of insulin degludec (reduced form)

d – CID = collision induced dissociation in tandem mass spectrometry (MS/MS)

2.6.5.11.B 2.6.5.11.B 推定代謝経路

Test Article: [^3H]-Insulin degludec

2.6.5.12 薬物動態：薬物代謝酵素誘導及び阻害

2.6.5.12.A ラットにおける CYP 誘導- 210241

Test Article: Insulin degludec

Title: Study to Investigate the Effect on Liver Cytochrome P450 Enzymes after Subcutaneous Administration to Han Wistar Rats for 2 Weeks, with NPH Insulin as Comparator		Study Number: 210241 Location in CTD: 4.2.2.4 Metabolism 4.2.2.4.6
Species:	Han Wistar Rat	
Gender (M/F) / Number of animals:	5 males and 5 females/group	
Feeding condition:	Ad libitum	
Formulations:		
Method of Administration:	100 nmol/ml of NPH insulin in an aqueous isotonic solution with 0.65 mg/ml phenol, 1.49 mg/ml <i>m</i> -cresol; pH 7.3. Subcutaneous	
Doses (nmol/kg/day):	25, 100 and 150 (insulin degludec) and 100 (NPH insulin)	
Sampling time:	2 weeks	
Methods:	Experimental method: Microsomes were prepared by homogenisation and differential centrifugation. Livers and microsomes were stored at ca –80°C. Microsomal incubations were performed in duplicate at ca 37°C using the following marker substrates: Ethoxyresorufin (CYP1A), Pentoxyresorufin (CYP2B), [¹⁴ C]-Testosterone (CYP3A, CYP2A1, CYP2B, CYP2C11), [¹⁴ C]-Tolbutamide (CYP2C7/11) and [¹⁴ C]-Lauric acid (CYP2E1). Metabolite formation was assessed by fluorescence spectroscopy for ethoxyresorufin O-deethylation (EROD) and pentoxyresorufin O-depentylation (PROD) and radio-HPLC for [¹⁴ C]-Testosterone hydroxylation (6β, 7α, 16α, 16β, 2α and 17β), [¹⁴ C]-Tolbutamide methylhydroxylation and [¹⁴ C]-Lauric acid 11-hydroxylation.	
	Statistical method Statistical analysis on the equally numbered sample groups was performed using the Williams' test, Shirley's test, Wilcoxon rank sum test or t test.	

Tabulated results:

Activity (Amount relative to control)

Enzyme/s	Activity/amount per mg protein (per g liver in brackets)	Insulin degludec						NPH insulin	
		25 nmol/kg/day		100 nmol/kg/day		150 nmol/kg/day		100 nmol/kg/day	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
NA	Microsomal proteins	(1.0)	(1.1)	(1.1)	(1.2**)	(1.2*)	(1.2**)	(1.3**)	(1.1*)
Total CYP450	Cytochrome P450	1.0 (1.0)	1.2 (1.3)	1.0 (1.1)	1.1 (1.3)	1.1 (1.3*)	1.1 (1.4**)	1.1* (1.4*)	1.2 (1.3*)
CYP1A	7-Ethoxyresorufin O-deethylase	1.1 (1.1)	1.0 (1.1)	1.1 (1.2)	1.2 (1.4)	1.2 (1.4)	1.3 (1.6*)	1.3 (1.6*)	1.0 (1.2)
CYP2A	Testosterone 7 α -hydroxylase	BLQ	1.1 (1.2)	BLQ	0.9 (1.1)	BLQ	1.0 (1.3)	BLQ	1.0 (1.1)
CYP2B	7-Pentoxoresorufin O-depentylase	1.0 (1.0)	1.1 (1.2)	1.1 (1.2)	1.4 (1.7*)	1.2 (1.4*)	1.5* (1.9**)	1.3** (1.6***)	1.4 (1.6)
CYP2C	Tolbutamide-methylhydroxylase	1.0 (1.0)	1.0 (1.1)	0.9 (1.0)	1.1 (1.3)	0.9 (1.1)	1.1 (1.4)	0.9 (1.1)	1.1 (1.2)
	Testosterone 16 α -hydroxylase	0.8 (0.8)	BLQ	1.0 (1.0)	BLQ	1.0 (1.1)	BLQ	1.0 (1.2)	BLQ
	Testosterone 2 α - (2 β -) hydroxylases	0.8 (0.8)	BLQ	1.0 (1.1)	BLQ	1.0 (1.2)	BLQ	1.0 (1.3*)	BLQ
CYP2B/C	Testosterone 17 β -dehydrogenase	0.9** (0.9)	0.9 (0.9)	0.8** (0.9)	0.8 (0.9)	0.9** (1.0)	1.1 (1.3)	0.8*** (1.0)	0.8 (0.9)
CYP2E	Lauric acid 11-hydroxylase	1.0 (1.0)	1.0 (1.1)	0.9 (0.9)	1.1 (1.3)	1.0 (1.1)	1.1 (1.4)	0.9 (1.1)	1.1 (1.2)
CYP3A	Testosterone 6 β -hydroxylase	0.9 (0.9)	1.0 (1.0)	0.9 (1.0)	1.0 (1.2)	1.0 (1.2)	1.0 (1.2)	0.9 (1.1)	1.0 (1.1)

Statistically significantly different from controls: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

BLQ = Below limit for quantification

2.6.5.13 薬物動態：排泄

2.6.5.13.A ラットにおける排泄- 206530

Test Article: [³H]-Insulin degludec

Report Title: [³H]-NNC 0100-0000-0454: A study of absorption and excretion following a single subcutaneous administration to the rat

Study No: 206530**Location in CTD:** 4.2.2.5 Excretion 4.2.2.5.1

Species:	Wistar Rat	Biliary cannulated Wistar rat
Gender Number of animals:	3M	3M
Feeding condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		
Method of Administration:	Subcutaneous	Subcutaneous
Dose (nmol/kg):	25	25
Assay	liquid scintillation counting	liquid scintillation counting

		intact			freeze-dried			intact				freeze-dried			
		Mean percentage of administered dose						Mean percentage of administered dose							
Time	Excretion route	Urine	Faeces	Total [#]	Urine	Faeces	Total ^a	Bile	Urine	Faeces	Total [#]	Bile	Urine	Faeces	Total ^a
	0–2 hours	-	-		-	-		0.148	-	-		0.132	-	-	
	2–4 hours	-	-		-	-		1.680	-	-		1.468	-	-	
	4–6 hours	-	-		-	-		1.595	-	-		1.406	-	-	
	6-12 hours	-	-		-	-		4.348	-	-		3.465	-	-	
	0-12 hours	7.489	-		7.122	-		-	-	-		-	-	-	
	12-24 hours	10.56	-		9.900	-		3.770	-	-		1.886	-	-	
	0-24 hours	-	10.11		-	9.946		-	14.15	3.204		-	10.38	1.581	
	24-48 hours	9.125	4.682		7.138	3.476		3.049	6.389	2.660		0.993	4.146	0.951	
	48-72 hours	3.648	2.176		1.537	0.882		1.749	2.800	1.941		0.198	1.055	0.573	
	72-96 hours	2.083	1.669		0.569	0.387		1.777	1.234	1.115		0.073	0.351	0.301	
	96-120 hours	1.758	1.236		0.283	0.204									
	120-144 hours	1.525	1.349		0.161	0.200									
	144-168 hours	1.250	1.085		0.079	0.123									
	Carcass			22.59			5.74				25.16				5.33
	0-96 hours	-	-	-	-	-	-	18.12	24.58	8.920	88.30	9.620	15.93	3.405	42.98
	0-168 hours	37.44	22.30	87.79	26.79	15.22	51.57	-	-	-	-	-	-	-	-

a – Total[”] values represent the radioactivity recovered from all samples (urine, faeces, bile, cage washings, cage debris and carcass, as appropriate)

Additional Information:

Samples analysed intact and after freeze-drying, to estimate the degree of volatile tritium components formed

2.6.5.13.B 乳汁中分泌- 210229

Test Article: [³H]-Insulin degludec

Title: [³H]-Insulin degludec: A study of lacteal secretion in the rat following subcutaneous administration

Species	Rat (Wistar strain), time-mated
----------------	---------------------------------

Study Number: 210229

Location in CTD: 4.2.2.5 Metabolism
4.2.2.5.2

Gender (M/F) / Number of animals: 17F

Feeding condition:	Fed
---------------------------	-----

Vehicle/Formulation: [REDACTED]

Method of Administration: Subcutaneous

Dose (nmol/kg): 25

Radionuclide: Tritium

Specific Activity: 0.679 MBq/mg (equivalent to 112 mCi/nmol)

Sampling time: 1, 3, 5 and 8 hours post-dose

Analyte/Assay : Milk and plasma analysis by liquid scintillation counting.

Animal number and sex	Sampling time	Radioactivity concentration (nmol equiv/l)				Milk : plasma ratio	
		Plasma		Milk		Individual	Mean (SD)
101F	1 hour	26.8	18.5 (7.18)	3.92	1.62 (2.00)	0.146	0.070 (0.066)
102F		14.6		0.361		0.025	
103F		14.1		0.566		0.040	
104F	3 hours	33.9	37.5 (8.36)	7.73	9.12 (2.96)	0.228	0.239 (0.023)
105F		47.1		12.5		0.266	
106F		31.6		7.10		0.225	
107F	5 hours	28.8	31.7 (4.00)	22.4	15.5 (6.05)	0.780	0.523 (0.229)
108F		36.5		NS		NC	
109F		28.1		12.5		0.444	
113F		33.6		11.5		0.343	
110F	8 hours	31.3	24.6 (5.05)	15.6	17.1 (3.22)	0.498	0.669 (0.211)
111F		24.7		14.9		0.603	
112F		23.0		20.8		0.905	
114F		19.3		NS		NC	

NA – Not Applicable, NC – Not Calculable, ND – Not Detected and NS – No Sample

2.6.5.14 藥物動態：胆汁中排泄

See Module 2.6.5.13.A

2.6.5.15 薬物動態：薬物相互作用

2.6.5.15.A ヒト血漿アルブミン結合に関する相互作用- CES 20-January- [REDACTED]

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec**Report Title:** Drug interaction of binding to human serum albumin**Study Number:** CES 20-January- [REDACTED]**Location in CTD:** 5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies 5.3.2.2.2**Study system:** Interaction of insulin degludec binding to human serum albumin immobilised to MiniLeak Sepharose beads and displacement of insulin degludec with palmitate, warfarin, acetylsalicylate and ibuprofen.**Target entity:** ¹²⁵I-Tyr^{A14} insulin degludec, batch 25A**Test system:** Human serum albumin immobilised to MiniLeak Sepharose beads**Method:** Samples comprising of 10 µmol/L immobilised serum albumin and 0.8 nmol/L ¹²⁵I-insulin degludec (89 µCi/ml) were incubated for two hours with increasing amount of one of the agents palmitate, warfarin, acetylsalicylate and ibuprofen (0-100 times the serum albumin concentration). The reaction was terminated by centrifugation and the amount of tracer in the supernatant and the pellet was measured on a gamma counter to estimate the free and bound fractions, respectively.

Drug/Compound	IC ₅₀ (µmol/L)
Palmitate	125 ^a
Warfarin	>1000
Acetylsalicylate	>5000
Ibuprofen	>5000

a – corresponding to an [IC₅₀]/[HSA] of 12.5

2.6.5.15.B ヒト血清アルブミン結合に関する相互作用- CES 101123

Test Article: [¹²⁵I]-Insulin degludec

Report Title: Drug-drug interaction of binding to human serum albumin

Study Number: CES 101123

Location in CTD: 5.3.2.2 Reports of Hepatic Metabolism and Drug Interaction Studies 5.3.2.2.3

Study system: Interaction of insulin degludec binding to human serum albumin immobilised to MiniLeak Sepharose beads and displacement of insulin degludec with Palmitate, Oleate, Linoleate, Ibuprofen, Glimepiride, Metformin, Sitagliptin, Liraglutide, Warfarin, Acetylsalicylate, Salicylate.

Target entity: ¹²⁵I-Tyr^{A14} insulin degludec, batch 36A

Test system: Human serum albumin immobilised to MiniLeak Sepharose beads

Method: Samples comprising of 0.3 µmol/L immobilised serum albumin and 25 pmol/L ¹²⁵I-insulin degludec (89 µCi/ml) were incubated for two hours with increasing amount of one of the agents Palmitate, Oleate, Linoleate, Ibuprofen, Glimepiride, Metformin, Sitagliptin, Liraglutide, Warfarin, Acetylsalicylate, Salicylate (typically 0-1000 times the serum albumin concentration). The reaction was terminated by centrifugation and the amount of tracer in the supernatant and the pellet was measured on a gamma counter to estimate the free and bound fractions, respectively.

Ligand	IC ₅₀ (µmol/L)	95% CI (µmol/L)	IC ₅₀ norm. [Ligand IC ₅₀]/[HSA]	Typical C _{max} ^a (µmol/L)
Palmitate	3.2	1.4 - 7.2	10.67	variable < 200
Oleate	5.5	3.7 - 8.2	18.33	variable < 200
Linoleate	4.1	2.8 - 6.0	13.67	variable < 200
Ibuprofen	11	7.2 - 15	36.67	90 – 265
Glimepiride	> 100	-	> 333	0.6 - 1.2
Metformin	> 500	-	> 1666	7 – 30
Sitagliptin	> 500	-	> 1666	1
Liraglutide	> 100	-	> 333	0.035
Warfarin	> 100	-	> 333	5.8 - 7.1
Acetylsalicylate	> 500	-	> 1666	800 - 1600
Salicylate	> 100	-	> 333	Metabolite of ASA

a – from drug label

2.6.5.16 薬物動態：その他の薬物動態試験

No studies performed