フィアスプ注フレックスタッチ
フィアスプ注ペンフィル
フィアスプ注 100 単位/mL

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 3
略語一覧 4
2.6.4.1 まとめ 6
2.6.4.2 分析方法 6
2.6.4.2.1 ブタを用いた PK／PD 試験における生体試料中インスリン アスパルト濃度分析 6
2.6.4.3 吸収 7
2.6.4.4 分布 9
2.6.4.5 代謝 9
2.6.4.6 排泄 9
2.6.4.7 薬物動態学的相互作用 9
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 10
2.6.4.8.1 *In vitro* - 内皮細胞を通過するインスリンアスパルトの吸収に対するニコチン酸アミドの効果 10
2.6.4.8.2 X 線小角散乱法（SAXS）を用いたインスリンアスパルトの自己会合の測定 10
2.6.4.8.3 *In vivo* - 投与部位の皮下血流量に対するニコチン酸アミドの効果（^{133}Xe ウォッシュアウト） 11
2.6.4.8.4 *Ex Vivo* – ブタ皮下動脈の血管弛緩に対するニコチン酸アミドの効果 11
2.6.4.8.5 *In vivo* - ニコチン酸アミド製剤を皮内投与後の皮膚血液灌流量 12
2.6.4.8.6 *In vivo* – ニコチン酸アミド製剤を皮下投与後の皮膚血液灌流量 13
2.6.4.9 考察及び結論 15
参考文献 16

図目次

ページ

図 2.6.4-1　Faster aspart 及びノボラピッド®注の LYD ブタにおける PK/PD プロファイル（平均値±SEM; n=2x8）.....8

図 2.6.4-2　[redacted]存在下におけるみかけの透過速度（P_{app}）に対するニコチン酸アミドの効果（平均±SEM、左図）、ならびに[redacted]存在下及び[redacted]非存在下におけるインスリンアスパルトのモノマー画分に対するニコチン酸アミドの効果（平均±95%信頼区間、右図）.....11

図 2.6.4-3　前収縮させた単離ブタ皮下動脈に対し段階的にニコチン酸アミド濃度を変更させたときの血管弛緩作用.....12

図 2.6.4-4　濃度の異なるニコチン酸アミドをブタに皮内投与後の LASCA を用いた皮膚血液灌流 $AUC_{0\text{-}15min}$.....13

図 2.6.4-5　皮下投与後のベースライン補正した皮膚血液灌流量（平均±SEM、左図）ならびに 6.5 分時点でのニコチン酸アミド及び生理食塩水による皮膚血液灌流量比較（平均±SD、右図）.....14

略語一覧

AUC	:	area under the concentration-time curve（濃度－時間推移曲線下面積）
$AUC_{0\text{-}15min}$		Area under the curve from 0 to 15 minutes（0～15 分時の濃度－時間推移曲線下面積）
$AUC_{0\text{-}60min}$		Area under the curve from 0 to 60 minutes（0～60 分時の濃度－時間推移曲線下面積）
AUC_{inf}	:	Area under the curve to infinity（濃度－時間推移曲線下面積）
*溶出物A	:	[redacted]
*溶出物A誘導体	:	[redacted]
*溶出物B	:	[redacted]
BSA	:	Body surface a ea（体表面積）
C_{max}	:	Maximal concentration（最高血中濃度）
CSII	:	Continuous subcutaneous insulin infusion（持続皮下インスリン注入療法）
FIA	:	Early formulation in development of fast-acting insulin aspart e.g. FIA (A)（Fast-acting インスリン アスパルトの開発初期段階の略号）
GLP	:	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
HCl	:	Hydrochloride（塩酸塩）
HDMEC	:	Human Dermal Microvascular Endothelial Cells（ヒト皮膚微小血管内皮細胞）
i.a.	:	Intra-arterial（動脈内）
Iasp	:	Insulin aspart（インスリン アスパルト）
ICH	:	International Conference on Harmonisation（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
i.d.	:	Intra-dermal（皮内）
i.m.	:	Intra-muscular（筋肉内）
i.v.	:	Intravenous（静脈内）
JP	:	Japanese Pharmacopoeia（日本薬局方）
LASCA	:	Laser Speckle Contrast analysis（レーザースペックルコントラスト解析）
LLOQ	:	Lower limit of quantification（定量下限未満）
LYD	:	Landrace x Yorkshire x Duroc（ランドレース・ヨークシャー・デュロック種）
LOCI	:	Luminescent Oxygen Channelling Immunoassay（蛍光酸素チャネリング免疫測定法）
NaCl	:	Sodium chloride（塩化ナトリウム）
NDA	:	New Drug Application（新薬の承認申請）
NOAEL	:	No Observed Adverse Effect level（無毒性量）
NOEL	:	No Observed Effect Level（無影響量）
OECD	:	Organisation for Economic Co-operation and Development（経済協力開発機構）
P_{app}	:	Apparent permeability（みかけの透過係数）
PD	:	Pharmacodynamic（薬力学的作用）
PDE	:	Permissible daily exposure（許容一日曝露量）

*新薬承認情報提供時に置き換え

P-glucose	:	Plasma glucose（血漿中グルコース）
PK	:	Pharmacokinetic（薬物動態）
PMDA	:	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (Japan)（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）
s.c.	:	Subcutaneous（皮下）
SD	:	Standard deviation（標準偏差）
SEM	:	Standard error of the mean（標準誤差）
SPF	:	Specific pathogen-free（特定病原体不在）
T_{max}	:	Time at maximal concentration（最高血中濃度到達時間）
TTC	:	Threshold of Toxicological Concern（毒性学的懸念の閾値）
U	:	Units（単位）
US	:	United States of America（米国）
^{133}Xe	:	Xenon 133

本 Module 中では、本剤（治験成分記号：NN1218）は faster aspart (fast-acting insulin aspart)と記載する。

2.6.4.1 まとめ

Faster-acting insulin aspart（faster aspart）は、インスリン アスパルト（IAsp）を含有する製剤である。インスリン アスパルトはノボラピッド®注として、全世界で 15 年以上糖尿病患者に投与されており、広範な実臨床経験及び治験データに基づき有効性及び安全性は十分に確立されている。Faster aspart は長期での皮下投与に用いる製剤として開発されている。

Faster aspart のブタへの皮下投与時の薬物動態（PK）及び薬力学的作用（PD）を検討し、ノボラピッド®注と比較した。0～15 分時の濃度－時間推移曲線下面積（$AUC_{0\text{-}15min}$）と 0～60 分時の AUC（$AUC_{0\text{-}60min}$）の比（$AUC_{0\text{-}15min}/AUC_{0\text{-}60min}$）を指標としてインスリン アスパルトの初期吸収を評価した結果、faster aspart では、ノボラピッド®注と比較して有意な増加が認められた。Faster aspart 投与後のインスリン アスパルトの初期吸収促進と一致して、血漿中グルコース濃度の速やかな低下も認められた。

Faster aspart の初期吸収促進のメカニズムを *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。これらの検討の結果、faster aspart 製剤中に存在するニコチン酸アミドが、皮下投与後に、直ちに吸収されるインスリン アスパルトのモノマーへの解離を促進させることにより、ノボラピッド®注に比べてより速やかに内皮を介して吸収が亢進されることが推測された。さらに、投与部位におけるニコチン酸アミドによる局所での一過的な血流量の増加もインスリンアスパルトの初期の吸収が速くなることに寄与する可能性が示唆された。

2.6.4.2 分析方法

2.6.4.2.1 ブタを用いた PK／PD 試験における生体試料中インスリン アスパルト濃度分析

ブタ試験（2.6.4.3、[redacted]）で得られた血漿試料を、均一なビーズを基盤としたサンドイッチイムノアッセイである LOCI（蛍光酸素チャンネリング免疫測定法、AlphaLISA）を用いてインスリン アスパルトを測定した。2 種類のビーズの近接度に依存するシグナルを測定する。ドナービーズはストレプトアビジンでコートされ、アクセプタービーズには、本測定法ではヒトインスリンを認識するモノクローナル抗体（HUI-018）が結合されている。サンドイッチに用いる 2 次抗体は、インスリンアスパルトの置換部位（B 鎖 28 位のプロリンからアスパラギン酸への置換）に対するビオチン化モノクローナル抗体（X14-6-F34A6B4）である。アッセイにおいて、3 試薬は分析物と結合し、ビーズ－凝集体－免疫複合体を形成する。複合体をレーザーで励起すると、ドナービーズから一重項酸素が放出され、それによりアクセプタービーズから、誘発される化学発光を測定する。発光量は、インスリン アスパルト濃度に比例する。ブタ血漿中インスリン アスパルトの定量限界（LLOQ）は 5 pmol/L であった。ブタインスリンの特異性（交差反応）は 1%未満であった。

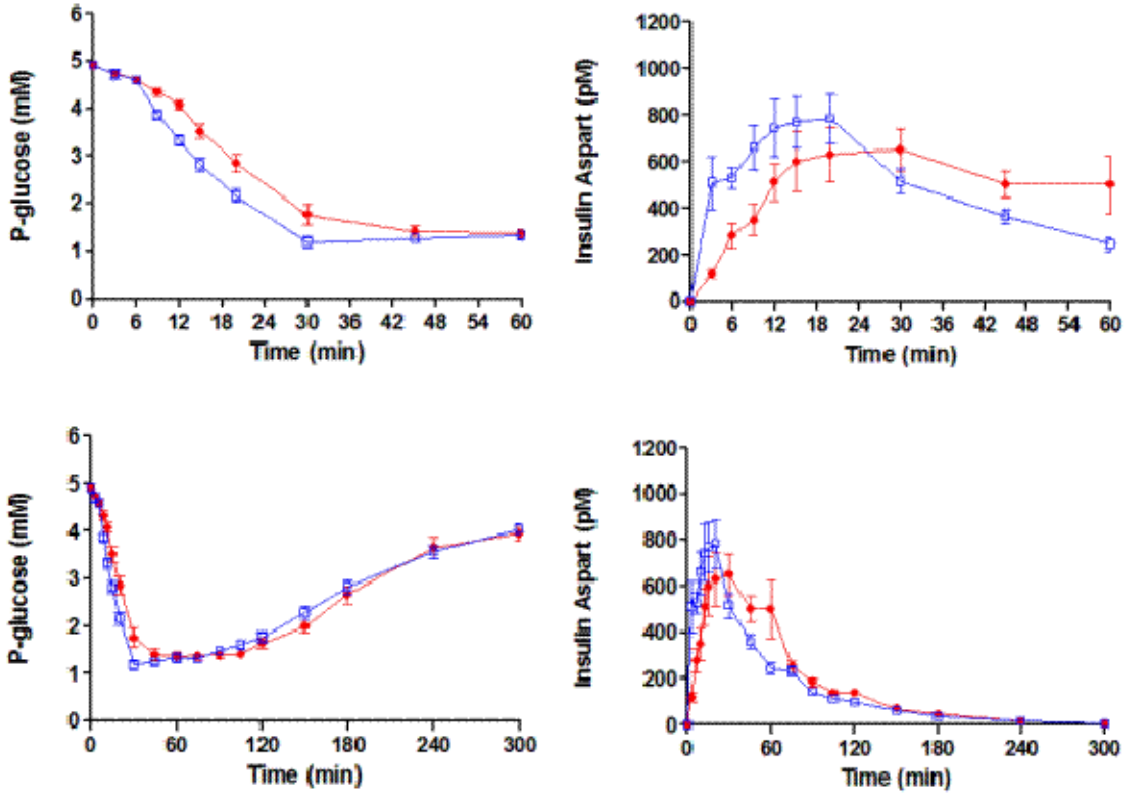
2.6.4.3 吸収

Faster aspart の PK/PD 試験を 8 頭の LYD（ランドレース・ヨークシャー・デュロック種）ブタを用いて実施し、ノボラピッド®注と比較した（[redacted]）。各頭に対し各処方を 2 回投与した。処方の詳細及び結果の概要は Module 2.6.5（Table 2.6.5.3.A、[redacted]）を参照。

インスリン アスパルトの初期吸収を評価するため、$AUC_{0\text{-}15min}/AUC_{0\text{-}60min}$ 比の増加が、初期吸収の促進により濃度－時間曲線が左にシフトすることを示すことから、$AUC_{0\text{-}15min}/AUC_{0\text{-}60min}$ 比を指標として用いた。

本試験では、faster aspart 及び他の 3 種類のインスリン アスパルト処方（1 nmol/kg インスリンアスパルト、2.6.2.2.1 参照）を皮下投与し、ノボラピッド®注と比較した（Table 2.6.5.3.A、[redacted]）。Faster aspart 及びノボラピッド®注におけるインスリン アスパルトの PK/PD プロファイルを図 2.6.4-1 に示す。Faster aspart 投与後のインスリン アスパルト $AUC_{0\text{-}15min}/AUC_{0\text{-}60min}$ 比（%で表示）は、ノボラピッド®注と比較して統計学的有意に増加したことが示され（Faster aspart については 27%、ノボラピッド®注については 15%、$p<0.001$）、すなわち、ブタに Faster aspart を投与後、インスリンアスパルトの初期吸収の有意な促進が示された。図 2.6.4-1 に示す通り、Faster aspart 中のインスリンアスパルトの初期吸収の促進と一致して、急速かつ明らかな血漿中グルコースの低下が認められた。

Faster aspart 投与後のインスリン アスパルトの総曝露量（AUC_{inf} として測定）は、ノボラピッド®注と同様であった。（Table 2.6.5.3.A、[redacted]）。



Upper two panels show the first hour after injection, while the lower panels show the full 5-hour profiles. Left two panels show the plasma glucose (P-glucose) response, while the right two panels show the plasma insulin aspart concentration-time curves, □ Faster Aspart ● NovoRapid®

図 2.6.4-1　　Faster aspart 及びノボラピッド®注の LYD ブタにおける PK/PD プロファイル（平均値±SEM; n=2x8）

2.6.4.4 分布

該当なし。

2.6.4.5 代謝

該当なし。

2.6.4.6 排泄

該当なし。

2.6.4.7 薬物動態学的相互作用

該当なし。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 *In vitro* - 内皮細胞を通過するインスリンアスパルトの吸収に対するニコチン酸アミドの効果

ヒト皮膚微小血管内皮細胞（HDMEC）の単層を通過するインスリン アスパルトの透過性に対するニコチン酸アミドの影響を検討する *in vitro* 試験を実施した。試験は各種インスリン アスパルト処方（ニコチン酸アミド／[redacted]を含有／含有、含有／非含有、非含有／含有、非含有／非含有）を用いて実施した。各試験の直前に製剤を緩衝液で 1：1 に希釈し、皮下投与直後に注射部位で認められた濃度を模倣した。ドナーチャンバー〔非内腔側（abluminal side）〕からレシーバーチャンバー〔内腔側（luminal side）〕への化合物の透過量を、インスリンアスパルトの LOCI 法を用いて 60 分間以上測定した。

[redacted]含有インスリンアスパルト処方では、ニコチン酸アミド存在下でインスリン アスパルトの内皮細胞透過速度が増加した（図 2.6.4-2、左図）。さらに、ニコチン酸アミド非含有処方と比較して、試験開始後 0～15 分と 0～60 分の各累積透過量の比〔0-15 分/0-60 分（%）〕が増加し、初期吸収の促進が認められた。しかしながら、[redacted]非含有処方におけるインスリンアスパルトの透過速度は、[redacted]含有処方よりも非常に高く（最大 134%）、[redacted]非存在下では、ニコチン酸アミドの添加による透過速度への影響は認められなかった（Table 2.6.5.16.A、[redacted]）。

2.6.4.8.2 X 線小角散乱法（SAXS）を用いたインスリンアスパルトの自己会合の測定

インスリン アスパルト分子の自己会合を推定するため、透過性測定において X 線小角散乱法（SAXS）を用いた。インスリン アスパルト分子の 6 量体（ヘキサマー）がまず 2 量体に、続いてモノマーに解離することはモノマー／ヘキサマーモデルを用いて十分にモデリング可能であり、すなわち、低濃度条件下（0.3 mmol/L、HBSS で希釈）では、2 量体の存在は無視できることが示唆される。

インスリン アスパルトの自己会合に対する[redacted]の影響として一般的な理解と一致して、[redacted]及び[redacted]非含有試料では、インスリン アスパルトモノマー画分が増加していた。しかしながら、[redacted]含有又は非含有試料にニコチン酸アミドを添加したときの結果をそれぞれ比較した場合、[redacted]の有無にかかわらずニコチン酸アミド存在下では試料中のモノマー画分の割合が非存在下に対して約 35%増加することが示された。[redacted]非含有試料におけるモノマー画分の割合を図 2.6.4-2 の右図に示す。これらの結果から、皮下投与後のニコチン酸アミドはインスリン アスパルトの自己会合に影響を及ぼし、それによりインスリン アスパルトの透過性の高い画分の割合が大きくなることが示唆された（Table 2.6.5.16.A、[redacted]）。

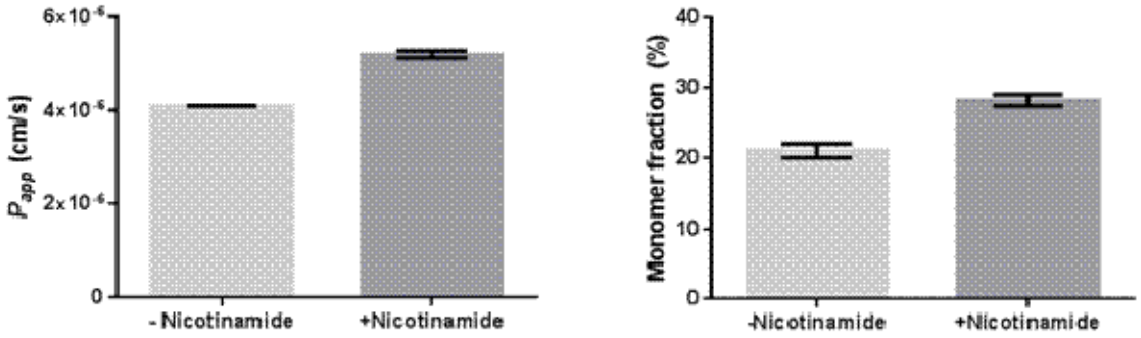


図 2.6.4-2　　[redacted]存在下におけるみかけの透過速度（P_{app}）に対するニコチン酸アミドの効果（平均±SEM、左図）、ならびに[redacted]存在下及び[redacted]非存在下におけるインスリンアスパルトのモノマー画分に対するニコチン酸アミドの効果（平均±95%信頼区間、右図）

2.6.4.8.3　*In vivo* - 投与部位の皮下血流量に対するニコチン酸アミドの効果（^{133}Xe ウォッシュアウト）

ニコチン酸アミドがモデル実験系で血流量に影響を及ぼした報告がある[1]ことから、ブタを用いてニコチン酸アミドの局所での皮下血流量への影響について、*in vivo* での検討を行った（Table 2.6.5.16.C、[redacted]）。

ニコチン酸アミド（[redacted] mmol/L）／インスリンアスパルト（[redacted]または[redacted] µmol/L）含有／非含有溶媒の局所での皮下血流量に及ぼす影響について、3 回にわけて検討した。3 回目の検討では陽性対照であるプロスタグランジン E1 も組み入れた[2]。Larsen *et al.*の方法[3]に基づき、皮下投与後 4 時間にわたり、投与部位でのキセノン 133（^{133}Xe；0.7～1.2 MBq／投与）の消失（ウォッシュアウト）を、ガンマカウンターを用いて測定した。

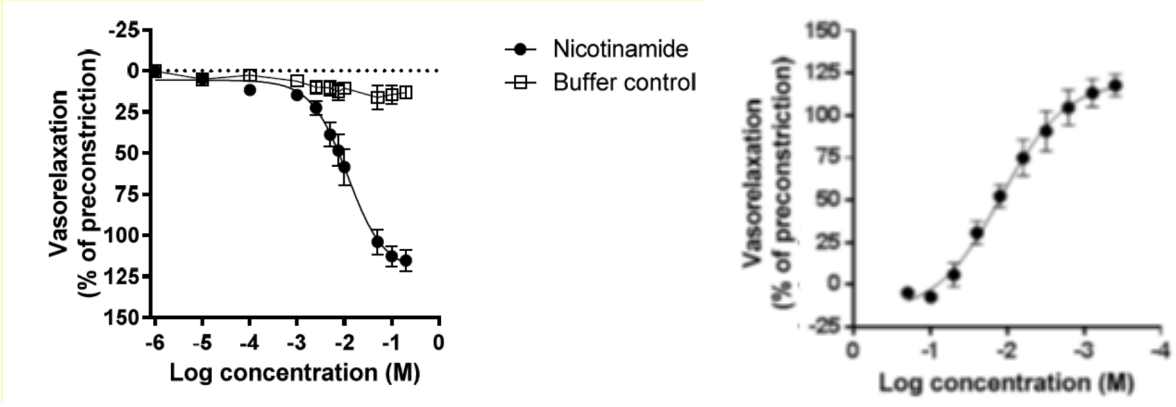
全体として、皮下投与 30 及び 120 分後の ^{133}Xe ウォッシュアウトを評価したが、ニコチン酸アミド単独による ^{133}Xe ウォッシュアウトへの明らかな影響は認められなかった。一方、プロスタグランジン E1 では明らかな ^{133}Xe ウォッシュアウトの亢進が認められた。

2.6.4.8.4　*Ex Vivo* – ブタ皮下動脈の血管弛緩に対するニコチン酸アミドの効果

単離ブタ皮下動脈の血管弛緩に対するニコチン酸アミドの直接作用に関し、*ex vivo* での検討を行った（Table 2.6.5.16.B、[redacted]）。本試験では、[redacted]を用いて前収縮させた単離ブタ皮下動脈に対し、a）ニコチン酸アミドを 1 µmol/L から 200 mmol/L に段階的に増加させて、又は b）ニコチン酸アミドを 200 mmol/L から段階的に減少させて、血管セグメントの収縮力を測定した。

結果として、ニコチン酸アミドはブタ皮下動脈に対し弛緩作用を示し、濃度を段階的に増加させて血管に添加した場合の EC_{50} 値は 11.6 mmol/L（95%信頼区間 7.5～17.9 mmol/L）であり、濃度を段階的に減少させて血管に添加した場合の EC_{50} 値は 12.1 mmol/L（95%信頼区間 7.7～19.2 mmol/L）であった（図 2.6.4-3）。なお、後者はニコチン酸アミドの皮下投与後における皮下の貯留状態に類似していると考えられる。

さらに、ニコチン酸アミドは内腔直径 400 µm を超える皮下血管（EC_{50} 値：19.8 mmol/L、95% 信頼区間： 13.9～28.8 mmol/L）よりも、内腔直径 400 µm 未満である皮下血管（EC_{50} 値：7.0 mmol/L、95% 信頼区間： 5.0～9.8 mmol/L）に対して強い作用を発現した。



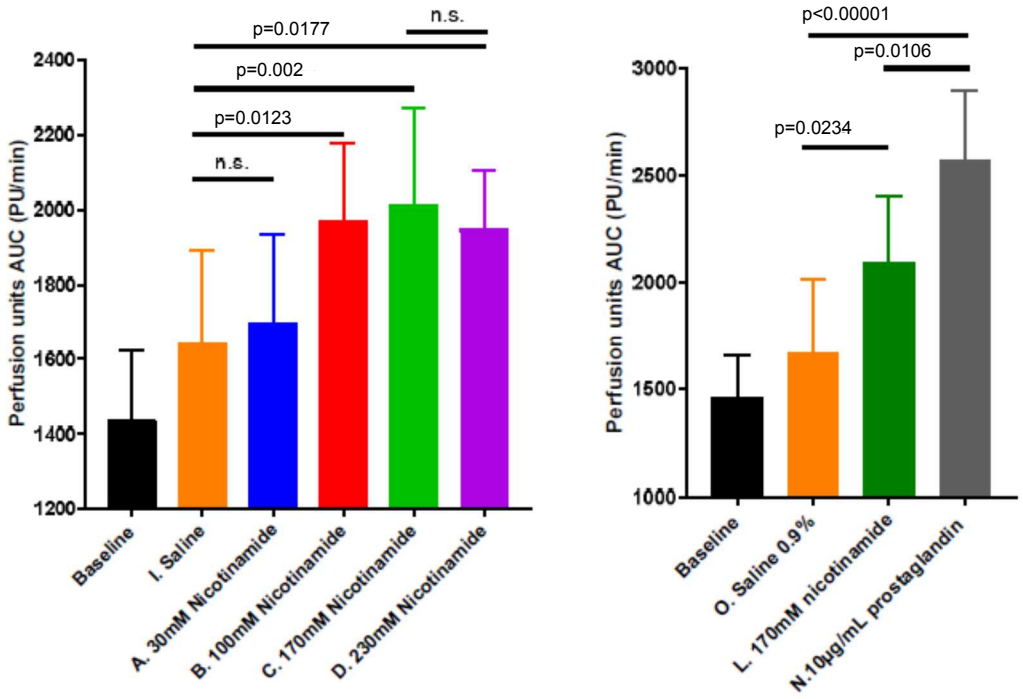
Left: Effect on vasorelaxation of nicotinamide by cumulatively increasing doses, mean ±SEM for 6 animals (nicotinamide) or 5 animals (buffer control).
Right: Reverse log concentration-vasorelaxation curve for nicotinamide. Adding the highest dose of nicotinamide to the vessels and then stepwise decreasing the nicotinamide dose. Data are mean ±SEM for 4 animals.
M: mol/L

図 2.6.4-3　　前収縮させた単離ブタ皮下動脈に対し段階的にニコチン酸アミド濃度を変更させたときの血管弛緩作用

2.6.4.8.5　　*In vivo* - ニコチン酸アミド製剤を皮内投与後の皮膚血液灌流量

ブタにおけるニコチン酸アミド含有製剤の皮内投与 15 分後までの皮膚血液灌流量に対する効果を調べるため、レーザースペックルコントラスト解析（LASCA）を用いて、*in vivo* による検討を行った（Table 2.6.5.16D、[redacted]）。LASCA は、レーザードップラー測定法と相関することが示されており[4,5]、瞬時に微小循環中の組織血液灌流量を可視化する新規の非侵襲的測定法である。LASCA 測定用の投与方法として皮内投与を選択した。

ニコチン酸アミド濃度を段階的に増加させた溶液を同容量（100 µL）投与した場合、ニコチン酸アミドは用量反応関係を示した。100 mmol/L 以上のニコチン酸アミド製剤では、生理食塩水と比較して皮膚血液灌流量の有意な増加が認められたが、30 mmol/L ニコチン酸アミドと生理食塩水との比較では有意差は認められなかった（図 2.6.4-4、左図）。さらに、170 mmol/L ニコチン酸アミド製剤は、10 µg/mL プロスタグランジン（陽性対照）と生理食塩水（0.9% NaCl、陰性対照）との間の血液灌流量を示した（図 2.6.4-4、右図）。



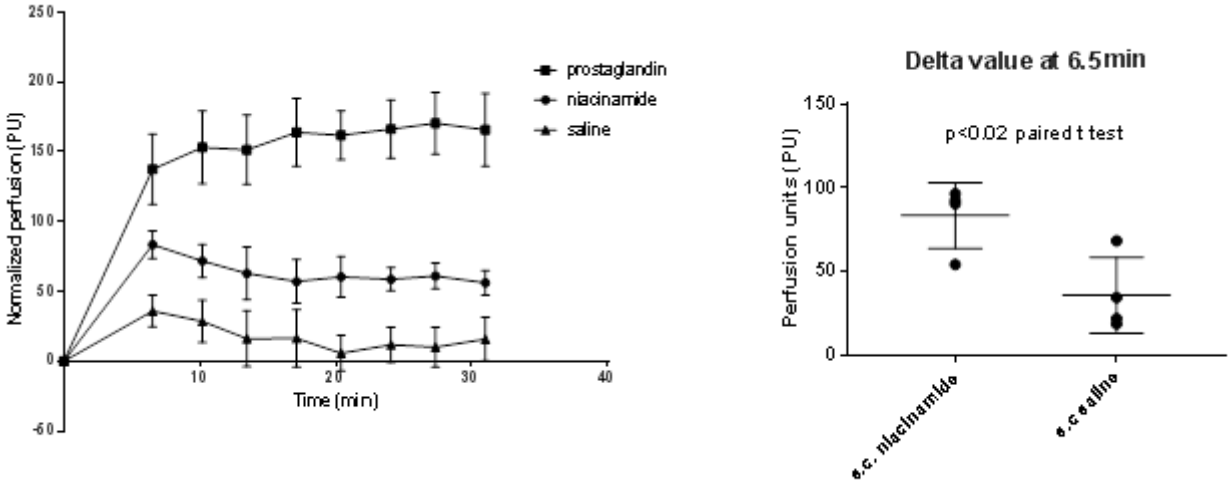
Left:Skin blood perfusion $AUC_{0\text{-}15min}$ (mean±SE) following i.d. injection of different concentrations of nicotinamide and saline (0.9% NaCl, negative control)
Right: Skin blood perfusion $AUC_{0\text{-}15min}$ (mean±SE) following i.d. injection of [redacted]mmol/L nicotinamide 10 µg/mL prostaglandin (positive control) and saline (0.9% NaCl, negative control)
n.s. Not significant

図 2.6.4-4　濃度の異なるニコチン酸アミドをブタに皮内投与後の LASCA を用いた皮膚血液灌流 $AUC_{0\text{-}15min}$

2.6.4.8.6　*In vivo* – ニコチン酸アミド製剤を皮下投与後の皮膚血液灌流量

ニコチン酸アミド製剤をブタに皮下投与し、レーザードップラー法[4,5]を用いて約 30 分後の皮膚血液灌流量に対するニコチン酸アミドの効果を *in vivo* で検討した（Table 2.6.4.5.16 E、304585）。レーザードップラー法は投与部位での局所的な血液灌流測定法である。

陽性対照であるプロスタグランジン（1 µg/mL）及びニコチン酸アミド（[redacted] mmol/L）双方とも生理食塩水（0.9%NaCl）に対し、統計学的に有意な血液灌流量の増加が認められた。



niacinamide (nicotinamide): [redacted] mmol/L, saline: 0.9% NaCl (negative control), prostaglandin: 1 µg/mL (positive control)

図 2.6.4-5　皮下投与後のベースライン補正した皮膚血液灌流量（平均±SEM、左図）ならびに 6.5 分時点でのニコチン酸アミド及び生理食塩水による皮膚血液灌流量比較（平均±SD、右図）

2.6.4.9 考察及び結論

Faster aspart を LYD ブタに投与した結果、ノボラピッド®注と比較してインスリン アスパルトの初期吸収（$AUC_{0\text{-}15min}/AUC_{0\text{-}60min}$）の促進が認められた。

ニコチン酸アミドがインスリン アスパルトの初期吸収を促進させるメカニズムについて、皮下投与後の faster aspart に近似する条件を用いて、*in vitro* 及び *in vivo* で検討した。HDMEC 単層を用いた *in vitro* 試験の結果、皮下投与後、ニコチン酸アミドがインスリン アスパルトのモノマーへの解離を促進し、内皮を介して透過速度を速めるものと推測された。投与部位での血液灌流量に対するニコチン酸アミドの直接作用に関連して、複数の *ex vivo* 及び *in vivo* 試験を実施した。ブタ皮下動脈を用いた *ex vivo* 試験の結果、皮下投与後にニコチン酸アミドが前収縮させた皮下動脈の血管弛緩を増加させることが示唆された。ブタを用いた各種 *in vivo* 試験のうち、^{133}Xe ウォッシュアウト（局所での皮下血流量マーカー）を用いた検討では、ニコチン酸アミド単独の効果は統計学的に有意ではなかったが、ニコチン酸アミドを皮内投与後に LASCA（皮膚血液灌流マーカー）を用いた検討では、ニコチン酸アミド濃度が 100 mmol/L 以上の時、局所的な皮膚血液灌流量が生理食塩水と比較して有意に増加した。レーザードップラー測定法（局所での血液灌流量推定法）を用いた検討では、ニコチン酸アミドの皮下投与部位での局所的な血液灌流量が、生理食塩水と比較して有意に増加した。^{133}Xe ウォッシュアウトによる検討と、LASCA 及びレーザードップラー測定法による検討では異なる結果が得られたが、これはそれぞれの測定法で局所的な血液灌流量の変化に対する検出感度が異なること、ならびに、ニコチン酸アミドとプロスタグランジン（陽性対照）では作用の持続時間や作用の空間的分布が異なることに関連するものと考えられる。以上の結果より、ニコチン酸アミドはインスリンアスパルトのモノマーへの解離を促進し、投与部位において局所的な血流量の増加をもたらし、このことが faster aspart 投与後のインスリン アスパルトの初期の吸収が速くなることに寄与する可能性が示唆された。

結論として、ブタにおけるインスリンアスパルトの初期吸収が促進し、その差は、ノボラピッド®注に比べて有意であった。メカニズム試験の結果から、ニコチン酸アミドが、皮下投与後速やかに吸収可能なインスリンアスパルトモノマーへの解離を促進させると考えられる。さらに、投与部位におけるニコチン酸アミドによる局所的かつ一過性の血液灌流量の増加も、インスリンアスパルトの初期の吸収が速くなることに寄与する可能性が示唆された。

参考文献

1 Powell ME, Hill SA, Saunders MI, Hoskin PJ, Chaplin DJ. Human Tumor Blood Flow is Enhanced by Nicotinamide and Carbogen Breathing. Cancer Res. 1997;57(23):5261-5264.

2 Williams G, Pickup JC, Collins ACG, Keen H. Prostaglandin E1 Accelerates Subcutaneous Insulin Absorption in Insulin‐Dependent Diabetic Patients. Diabet Med. 1984;1(2):109-113.

3 Larsen OA, Lassen NA, Quaade F. Blood Flow Through Human Adipose Tissue Determined with Radioactive Xenon. Acta Physiol Scand. 1966;66(3):337-345.

4 Forrester, K. R., et al. "Comparison of laser speckle and laser Doppler perfusion imaging: measurement in human skin and rabbit articular tissue." Medical and Biological Engineering and Computing 40.6 2002: 687-697.

5 Roustit, M., et al. "Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity." Microvascular research 80.3. 2010: 505-511.

フィアスプ注フレックスタッチ
フィアスプ注ペンフィル
フィアスプ注 100 単位/mL

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
2.6.5.1 薬物動態一覧 3
2.6.5.2 分析法及びバリデーション報告書 4
2.6.5.3 吸収（単回投与） 5
2.6.5.3.A LYD ブタに異なる処方のインスリン アスパルトを皮下投与時の薬物動態／薬力学プロファイル（[redacted]） 5
2.6.5.4 吸収（反復投与） 7
2.6.5.5 組織分布 7
2.6.5.6 血漿タンパク質結合 7
2.6.5.7 妊娠又は授乳動物を用いた試験 7
2.6.5.8 その他の分布試験 7
2.6.5.9 *In vivo* 代謝 7
2.6.5.10 *In vitro* 代謝 7
2.6.5.11 推定代謝経路 8
2.6.5.12 薬物代謝酵素誘導／阻害 8
2.6.5.13 排泄 8
2.6.5.14 胆汁中排泄 8
2.6.5.15 薬物相互作用 8
2.6.5.16 その他の薬物動態試験 9
2.6.5.16.A 毛細血管上皮細胞モノレイヤーを通じたインスリン アスパルトの吸収（[redacted]） 9
2.6.5.16.B ^{133}Xe ウォッシュアウト試験（[redacted]） 10
2.6.5.16.C 単離ブタ皮下動脈に対するニコチン酸アミドの血管弛緩の効果（[redacted]） 13
2.6.5.16.D LYD ブタにニコチン酸アミド製剤を皮内投与時のレーザースペックルコントラスト法を用いた皮膚血液灌流（[redacted]） 14
2.6.5.16.E ニコチン酸アミド製剤を皮下投与時の皮下血液量（304585） 15

2.6.5.1 薬物動態一覧

Test Article:

Faster-acting Insulin Aspart

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study ID	Location in CTD
Absorption					
PK/PD study of faster acting insulin aspart (faster aspart)	Pig/LYD[1)]	s.c. (single dose)	Novo Nordisk A/S	2.6.5.3.A	4.2.2.2-1
Distribution					
No studies performed with faster aspart[2)]					
Metabolism					
No studies performed with faster aspart[2)]					
Excretion					
No studies performed with faster aspart[2)]					
Pharmacokinetic Drug Interactions					
No studies performed with faster aspart[2)]					
Other					
Absorption of insulin aspart across capillary endothelial monolayers	HDMEC[3)]	*in vitro*	Novo Nordisk A/S	2.6.5.16.A	5.3.2.3-1
Studies of ^{133}Xe washout	Pig/LYD	s.c. (single dose)	Novo Nordisk A/S	2.6.5.16.B	4.2.2.7-1
Effect of nicotinamide on vasorelaxation of isolated porcine subcutaneous arteries	Isolated Porcine Subcutaneous Arteries	*Ex vivo*	Novo Nordisk A/S	2.6.5.16.C	4.2.2.7-2
Skin blood perfusion after intra dermal injection of nicotinamide formulations	Pig/LYD	i.d. (single dose)	Novo Nordisk A/S	2.6.5.16.D	4.2.2.7-3
Subcutaneous blood flow after subcutaneous injection of nicotinamide formulation	Pig/LYD	s.c. (single dose)	Novo Nordisk A/S	2.6.5.16.E	4.2.2.7-4

s.c.: subcutaneous, i.d: intradermal
[1)] LYD pigs: Hybrid of Landrace, Yorkshire and Duroc pigs
[2)] No studies performed with faster aspart since faster aspart is a new formulation of a marketed product, NovoRapid®
[3)] HDMEC: human dermal microvascular endothelial cells

2.6.5.2 分析法及びバリデーション報告書

No additional validation reports of analytical methods are included since fast-acting insulin aspart (faster aspart) is a new formulation of a marketed product (NovoRapid®) and no toxicokinetic study was performed in the nonclinical development programme of faster aspart. Please see 2.6.4.2 Method of Analysis for the methods used for assessment of the PK/PD study in pigs ([redacted]).

2.6.5.3 吸収（単回投与）

Test Article:
Faster-acting Insulin Aspart

2.6.5.3.A LYD ブタに異なる処方のインスリン アスパルトを皮下投与時の薬物動態／薬力学プロファイル（[redacted]）

Location in CTD: 4.2.2.2-1

Study ID	[redacted]
Species	Pig/LYD
Gender (M/F) / Number of animals[a)]	F/8
Feeding condition	Fasted
Vehicle/Formulation	**1) NovoRapid®**: AS65039: 0.6 mmol/L insulin aspart, 19.6 µg/mL (0.3 mmol/L) Zn, 1.50 mg/mL (16 mmol/L) phenol, 1.72 mg/mL (16 mmol/L) m-cresol, 16 mg/mL (1.6% (w/vol)) glycerol, 1.25 mg/mL (7 mmol/L) phosphate, 0.58 mg/mL (10 mmol/L) NaCl, pH 7.4 **2) Faster Aspart**: NNC 0121-0138-0014-4X: 0.6 mmol/L insulin aspart (NNC0121-0000-0014-2C), 19.6 µg/mL (0.3 mmol/L) ZnAc, 1.50 mg/mL (16 mmol/L) phenol, 1.72 mg/mL (16 mmol/L) m-cresol, 3.3 mg/mL (0.33% (w/vol)) glycerol, 0.53 mg/mL (3 mmol/L) phosphate, 3.48 mg/mL (20 mmol/L) Arg/HCl, 20.8 mg/mL (170 mmol/L) nicotinamide, pH 7.1
Method of Administration	s.c.
Dose (nmol/kg)	1.0
Sample	Plasma
Analyte	Insulin aspart
Assay	LOCI[b)]
PK parameters:	
T_{max} (median; min)	1) 30 [12;60][c)] 2) 12 [3;60][c)]
C_{max} (pmol/L)	1) 968±594[d)]

Study ID	[redacted]
AUC_{inf} (pmol/L*min)	2) 987±527[d)] 1) 51607±13172[d)] 2) 46200±11998[d)]
AUC_{0-15}/AUC_{0-60} (%)	1) 15±6[d)] 2) 27±7[d)]

Additional Information:

[a)] In the design, each formulation was dosed twice into each of the eight animals

[b)] LOCI: Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay

[c)] [min - max]

[d)] Mean±SD

2.6.5.4 吸収（反復投与）

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.5 組織分布

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.6 血漿タンパク質結合

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.7 妊娠又は授乳動物を用いた試験

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.8 その他の分布試験

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.9 *In vivo* 代謝

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.10 *In vitro* 代謝

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.11 推定代謝経路

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.12 薬物代謝酵素誘導／阻害

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.13 排泄

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.14 胆汁中排泄

No studies have been conducted with faster aspart since insulin aspart is known to be rapidly and extensively degraded to smaller peptides.

2.6.5.15 薬物相互作用

No studies have been conducted for faster aspart since this is a new formulation of the marketed insulin aspart product.

2.6.5.16 その他の薬物動態試験

Test Article:
Various vehicles with and without nicotinamide and insulin aspart

2.6.5.16.A 毛細血管上皮細胞モノレイヤーを通じたインスリン アスパルトの吸収（[redacted]）

Experiment	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Vehicle/Formulation	1) +[redacted]/–nicotinamide 2) +[redacted]/+nicotinamide 3) –[redacted]/–nicotinamide 4) –[redacted]/+nicotinamide	1) +[redacted]/–nicotinamide 2) +[redacted]/+nicotinamide 3) –[redacted]/–nicotinamide 4) –[redacted]/+nicotinamide	1)+[redacted]/-nicotinamide 2)+[redacted]/+nicotinamide 3)-[redacted]/-nicotinamide 4)-[redacted]/+nicotinamide
P_{app}[1)] (cm/s)	1) 4.1×10^{-6} 2) 5.2×10^{-6} 3) 9.5×10^{-6} 4) 9.1×10^{-6}		
Flux (pmol/cm^2/min)		1) 100.7 2) 111.3 3) 207.0 4) 188.2	
Accumulated amount (0-15 min)/ accumulated amount (0-60 min) (%)	1) 24.7 2) 33.2 3) 36.8 4) 33.6	1) 26.7 2) 29.1 3) 25.2 4) 24.7	
Monomer insulin aspart fraction (%)			1) 3.0 2) 4.1 3) 21.0 4) 28.2

[1)] P_{app} Apparent permeability constant

2.6.5.16.B ^{133}Xe ウォッシュアウト試験（[redacted]）

Experiment no.	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Species	Pig/LYD	Pig/LYD	Pig/LYD
Gender (M/F) / Number of animals	F/8	F/8	F/8
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	1) NovoRapid® 2) NovoRapid® vehicle 3) Faster Aspart 4) Vehicle containing nicotinamide See additional information below table	1) NovoRapid® 2) NovoRapid® vehicle 3) Faster Aspart 4) Vehicle containing nicotinamide See additional information below table	1) NovoRapid® 2) NovoRapid® vehicle 3) Faster Aspart 4) Vehicle containing nicotinamide 5) Insulin aspart formulation containing prostaglandin 6) Vehicle containing prostaglandin See additional information below table
Method of Administration	s.c.	s.c.	s.c
Dose (nmol/kg)	0.6	0.6	0.6
Sample	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Insulin aspart	Insulin aspart	Insulin aspart
Assay	LOCI	LOCI	LOCI
AUC_{0-15}/AUC_{0-60} (%)	1) 17 2) n/a 3) 24 4) n/a	1) 23 2) n/a 3) 32 4) n/a	1) 17 2) n/a 3) 34 4) n/a 5) 23 6) n/a

Experiment no.	JKiP130102	JKiP130201	JKiP130402
^{133}Xe signal 30 min after dosing (% of initial signal)	1) 69.1 2) 66.3 3) 49.7 4) 68.5	1) 78.8 2) 80.4 3) 73.0 4) 86.2	1) 57.5 2) 71.0 3) 41.5 4) 58.6 5) 21.4 6) 28.5
^{133}Xe signal 120 min after dosing (% of initial signal)	1) 28.6 2) 37.1 3) 16.8 4) 38.5	1) 33.5 2) 48.2 3) 30.3 4) 56.4	1) 18.6 2) 31.8 3) 13.6 4) 26.9 5) 3.2 6) 4.7

Add t onal information on vehicle/formulation:

[redacted]:

1) 0121-9112-0014-27X: 590 µmol/L insulin aspart; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) sodium chloride; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol, pH 7.41

2) NovoRapid® vehicle: 16 mg/mL (1.6% (w/vol)) glycerol; 1.25 mg/mL (7 mmol/L) phosphate; 0.58 mg/mL (10 mmol/L) sodium chloride; 1.50 mg/mL (16 mmol/L) phenol; 1.72 mg/mL (16 mmol/L) m-cresol; pH 7.40

3) 0121-0116-0014-1X: 600 µmol/L insulin aspart; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) L-arginine hydrochloride; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) nicotinamide; pH 7.37

4) Vehicle with nicotinamide: [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) nicotinamide; pH 7.44

* Immediately prior to dosing the above formulations in the neck through the same mounting plate, 100 µL of ^{133}Xe in saline was injected.

[redacted]:

1) 0121-9112-0014-27X: 590 µmol/L insulin aspart; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) sodium chloride; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol, pH 7.44

2) NovoRapid® vehicle: 16 mg/mL (1.6% (w/vol)) glycerol; 1.25 mg/mL (7 mmol/L) phosphate; 0.58 mg/mL (10 mmol/L) sodium chloride; 1.50 mg/mL (16 mmol/L) phenol; 1.72 mg/mL (16 mmol/L) m-cresol; pH 7.40

3) 0121-0116-0014-1X: 600 µmol/L insulin aspart; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) L-arginine hydrochloride; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) nicotinamide; pH 7.37

4) Vehicle with nicotinamide: [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) nicotinamide; pH 7.4

* Immediately prior to dosing the above formulations in the neck through the same mounting place, 100 µL of ^{133}Xe in saline was injected.

[redacted]:

1) 0121-9112-0014-33X: 590 µmol/L insulin aspart; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) sodium chloride; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol; pH 7.39

2) NovoRapid® vehicle: 16 mg/mL (1.6% (w/vol)) glycerol; 1.25 mg/mL (7 mmol/L) phosphate; 0.58 mg/mL (10 mmol/L) sodium chloride; 1.50 mg/mL (16 mmol/L) phenol; 1.72 mg/mL (16 mmol/L) m-cresol; pH 7.39

3) 0121-0116-0014-3X: 590 µmol/L insulin aspart; [redacted] µg/mL ([redacted] mmol/L) zinc acetate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phenol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) m-cresol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) L-arginine hydrochloride; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) nicotinamide; pH 7.40

4) Vehicle with nicotinamide: 1% (w/vol) glycerol; 170 mmol/L nicotinamide; pH 7.40

5) 0121-0037-0014-3X: 600 µmol/L insulin aspart; [redacted] mg/mL ([redacted] (w/vol)) glycerol; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate; [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) sodium chloride; [redacted] µg/mL prostaglandin E1; pH 7.44

6) Vehicle with prostaglandin: [redacted] µg/mL prostaglandin E1 (incl [redacted] ethanol), [redacted] ethanol, [redacted] mg/mL ([redacted] mmol/L) phosphate, [redacted] mg/mL ([redacted]) glycerol, pH 7.40

* ^{133}Xe was dissolved directly into the above formulations prior to dosing.

2.6.5.16.C 単離ブタ皮下動脈に対するニコチン酸アミドの血管弛緩の効果（[redacted]）

Experiment	Cumulative dose response	Effect on vessel luminal diameter	Reversal of the vasorelaxing effect
Vehicle/Formulation	[redacted] µmol/L to [redacted] mmol/L nicotinamid in PSS*	[redacted] µmol/L to [redacted] mmol/L nicotinamid in PSS*	[redacted] mmol/L then stepwise decreasing to [redacted] mmol/L of nicotinamide levels in PSS*
Overall vessel			
EC_{50} (mmol/L)	11.6		12.1
[95% confidential interval]	[7.5, 17.9]		[7.7, 19.2]
Luminal diameter of vessel: <400 µm			
EC_{50} (mmol/L)		7.0	
[95% confidential interval]		[5.0, 9.8]	
Luminal diameter of vessel: >400 µm			
EC_{50} (mmol/L)		19.8	
[95% confidential interval]		[13.9, 28.8]	

Additional information on vehicle/formulation:

PSS*: Physiological saline solution; 4,7 mmol/L KCl, 118.5 mmol/L NaCl, 15 mmol/L $NaHCO_3$, 1.2 mmol/L KH_2PO_4, 1,2 mmol/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 11 mmol/L Glucose, 2,5 mmol/L $CaCl_2$, 0.023 mmol/L EDTA

2.6.5.16.D LYD ブタにニコチン酸アミド製剤を皮内投与時のレーザースペックルコントラスト法を用いた皮膚血液灌流（[redacted]）

Experiment no.	[redacted] **part 1**	[redacted] **part 2**
Species	Pig/LYD	Pig/LYD
Gender (M/F) / Number of animals	F/8	F/6
Feeding condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	A. [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted]mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 B. [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted]mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 C. [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted]mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 D. [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted]mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 O. Saline (0.9%NaCl)	L. [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted]mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 N. [redacted] µg/mL Prostaglandin E1, [redacted] mmol/L NaCl, [redacted] mmol/L phosphat, pH 7.4 I. Saline (0.9%NaCl)
Method of Administration	i.d.	i.d.
Dose (µL/site)	100 µL/site	100 µL/site
Sample	injection fields on the side of the neck	injection fields on the side of the neck
Analyte	Nicotinamide	Nicotinamide
Assay	Laser Speckle Contrast analysis	Laser Speckle Contrast analysis
Penetration unit AUC (PU/min)	A. 1699±74.62, A vs I (n.s) B. 1969±65.86, B vs I (p=0.0123) C. 2015±77.48, C vs I (p=0.002), C vs D (n.s.) D. 1950±46.61, D vs I (p=0.0177), D vs C (n.s.) I. 1645±74.31	L. 2100±102.9, vs O (p=0.0234), vs N (p=0.0106) N. 2573±107.3, vs O (p<0.00001), vs L (p=0.0106) O. 1671±115.9

Mean ±SE, n.s: not significant

Additional information: Statistical analysis was analysed by calculating the AUC of each profile from time=0 to time = 15min. The resulting values including the baseline group were compared using a one-way ANOVA including a Tukey post hoc correction for multiple comparisons.

2.6.5.16.E ニコチン酸アミド製剤を皮下投与時の皮下血液量（304585）

Species	Pig/LYD		
Gender (M/F) / Number of animals[a)]	F/2 (n=2/animal/group)		
Feeding condition	Fed		
Vehicle/Formulation	● [redacted]mmol/L nicotinamide, [redacted] mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 ● 1µg/ml Prostaglaindin E1, [redacted] mmol/L NaCl, [redacted]mmol/L phosphate, pH=7.4 ● 140 mmol/L NaCl, 10mmol/L phosphate, pH=7.4 (saline)		
Method of Administration	s.c.		
Dose (µL/site)	100 µL/site		
Sample	injection fields on the side of the neck		
Analyte	Nicotinamide		
Assay	Laser Doppler analysis		
Delta value of Blood Perfusion unit (PU/min) at time after administration [a)]	Nicotinamide	Prostaglandin	Saline
0.0 min	0.0 ±0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
6.53 min	83.6 ±9.8	137.6± 25.3	36.0 ± 11.3
10.2 min	71.9 ± 11.9	153.2± 26.0	28.6 ± 15.1
13.47min	63.0 ± 18.9	151.5± 24.8	16.2 ± 20.1
17.13 min	57.2 ± 15.7	164.0± 24.3	16.4 ± 20.7
20.4 min	60.5 ± 14.6	161.9 ± 17.5	5.8 ± 12.6
24.07 min	58.8 ± 8.2	166.4 ± 21.0	11.8 ± 12.7
27.34 min	61.1 ± 9.2	170.6 ± 22.1	10.1 ± 14.4
31.01 min	56.2 ± 8.8	165.9 ± 26.1	15.9 ± 15.6

Additional Information:

[a)] Baseline (0.0 min) signal was subtracted from the recorded value at each time point.