ルムジェブ注カート
ルムジェブ注ミリオペン
ルムジェブ注ミリオペン HD
ルムジェブ注 100 単位/mL

2.6.4　薬物動態試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 1
2.6.4.1 まとめ 1
2.6.4.2 分析法 2
2.6.4.2.1 ラット、ウサギ及びイヌの血漿中トレプロスチニル濃度測定法 2
2.6.4.2.2 糖尿病ブタの血清中総インスリン濃度測定法 3
2.6.4.3 放射性標識トレプロスチニル 3
2.6.4.4 吸収 4
2.6.4.4.1 トレプロスチニルの吸収 4
2.6.4.4.1.1 ラットにおけるトレプロスチニル単回投与時のファーマコキネティクス 4
2.6.4.4.1.2 ラットにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス 4
2.6.4.4.1.3 妊娠ウサギにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス 6
2.6.4.4.1.4 イヌにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス 7
2.6.4.4.2 種々のリスプロ試験製剤でのリスプロの吸収 9
2.6.4.5 分布 13
2.6.4.5.1 トレプロスチニルの分布 13
2.6.4.5.2 LY900014 の分布 14
2.6.4.6 代謝 14
2.6.4.6.1 トレプロスチニルの代謝 14
2.6.4.6.2 LY900014 の代謝 15
2.6.4.7 排泄 15
2.6.4.7.1 トレプロスチニルの排泄 15
2.6.4.7.2 LY900014 の排泄 16
2.6.4.8 薬物動態学的相互作用 16
2.6.4.9 その他の薬物動態試験 16
2.6.4.10 考察及び結論 16
2.6.4.11 図表 17
2.6.4.12 参考文献 17

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

LY900014 製剤は、既承認の超速効型インスリンアナログであるヒューマログ注（以下、ヒューマログ）の有効成分インスリン リスプロ（以下、リスプロ）に、投与部位からの吸収を促進させる作用を持つトレプロスチニルナトリウム（以下、トレプロスチニル）及びクエン酸ナトリウム（以下、クエン酸）を添加剤として加えた新規の超速効型インスリン製剤である。トレプロスチニルはトレプロスト注射液の有効成分として日本で承認されており、肺動脈性肺高血圧症に対し持続静脈内投与又は持続皮下投与で使用されるプロスタサイクリンのアナログである（トレプロスト注射液添付文書, 2017）。LY900014 製剤に含まれる少量のトレプロスチニルは、局所血管拡張によりリスプロの吸収を促進する。また、クエン酸は血管透過性を高めることで、リスプロの吸収を促進する。

リスプロの薬物動態試験はリスプロの初回申請時に実施済みであることから、今回の申請にあたり、新たな試験は実施しなかった。

リスプロのファーマコキネティクス（PK）及びファーマコダイナミックス（PD）に及ぼすトレプロスチニル及びクエン酸の影響を評価するため、これらを種々の量で含有するリスプロ製剤を雄性糖尿病 Yucatan ミニブタに投与する PK/PD 試験を 4 件実施した。これらの試験ではリスプロを有効成分とする超速効型インスリンアナログであるヒューマログを対照製剤として使用した。以下に得られた成績を要約する。

- トレプロスチニル及びクエン酸の存在下で、リスプロの吸収はヒューマログ対照群と比較して速やかであり、総インスリン濃度に対する Early 50% t_{max}［最高血清中濃度（C_{max}）の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間］及び Late 50% t_{max}［最高血清中濃度到達時間（t_{max}）後に C_{max} の 1/2 の濃度に低下するまでの時間］の短縮が認められた。
- 市販予定製剤と同じ濃度のクエン酸及びトレプロスチニルを含む LY900014 試験製剤（133D）を投与した試験では、LY900014 試験製剤（133D）群の総インスリン曝露量［血清中濃度－時間曲線下面積（AUC）及び C_{max}］はヒューマログ対照群の値よりも有意に高かった。しかしながら、同試験における LY900014 試験製剤（133D）群の総インスリン曝露量は、他の 3 試験におけるヒューマログ対照群の曝露量と同程度であった。

LY900014 製剤に少量含まれるトレプロスチニル（リスプロ 1 単位当たり 10 ng）は肺動脈性肺高血圧症の治療薬として承認されているが、医薬品添加剤としての皮下投与による使用前例がないため、トレプロスチニルを皮下投与した薬物動態試験を実施した。ラット、妊娠ラット、妊娠ウサギ及びイヌを用いて、トレプロスチニルを連日皮下投与した際のトキシコキネティクス（TK）を評価した。また、ラット及びヒトの肝細胞を用いて、[^{14}C]トレプロスチニルの in vitro 代謝を検討した。さらに、ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下又は単回静脈内投与した際の薬物動態（吸収、分布、代謝及び排泄）も評価した。以下に得られた成績を要約する。

- ラット及びイヌのいずれにおいても、トレプロスチニルの曝露量は用量の増加に伴ってほぼ用量比例的に増加した。雌雄間の曝露量の差は 2 倍以内であった。ラット及びイヌの反復投

与後の曝露量を試験 1 日目と比較した結果、トレプロスチニルの血漿中濃度に蓄積は認められなかった。イヌ 6 ヵ月間反復投与毒性試験におけるトレプロスチニルの曝露量は試験 1 日目と 180 日目で概して同程度であった。ラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、試験 90 及び 180 日目の曝露量は試験 1 日目よりも高かったが、投与前及び投与 24 時間後の血漿中濃度は定量下限未満であった。妊娠ウサギでの曝露量は用量の増加に伴って増加したが、その増加には一貫した用量比例性は認められなかった。

- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与したとき、未変化体は循環血中放射能の 37%であった。In vitro 及び in vivo の代謝は類似しており、主要代謝経路は、水酸化及び脱水素化の組合せを含めた、種々の部位での酸化であった。ヒト肝細胞とのインキュベーションで確認されたすべての代謝物は、ラットの肝細胞でも認められた。
- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与したとき、放射能は組織及び臓器に広範に分布した。高い放射能濃度を示した組織は、投与部位、肝臓、腎臓及び血漿であった。
- 雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与した際の主要排泄経路は、代謝物としての肝胆汁中／糞中排泄であった。

なお、TK 試験ではトレプロスチニルナトリウム（投与量はトレプロスチニル量として表記）をその他の試験ではトレプロスチニル（フリー体）を用いた。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 ラット、ウサギ及びイヌの血漿中トレプロスチニル濃度測定法

報告書 8326664（4.2.2.1.1）、8337558（4.2.2.1.2）、8326554（4.2.2.1.3）

ラット（報告書 8326664）、ウサギ（報告書 8337558）及びイヌ（報告書 8326554）の血漿中トレプロスチニル濃度の測定にはバリデーションされた液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析（LC-MS/MS）法を用いた。これらの分析法のバリデーションデータを表 2.6.4-1 に示す。

表 2.6.4-1 血漿中トレプロスチニル濃度分析法のバリデーションデータ

報告書番号 バリデーション実施施設 分析法の種類	適応試験の報告書番号	動物種	定量範囲（ng/mL）	測定間精度（%RSD）	測定間真度（%RE）	安定性データ
8326664 [redacted] LC-MS/MS	8329342 8327887 8340039 8338440 8338441 8338442 20104727	ラット	0.0200～20.0 （希釈係数 100 倍）	1.0～13.1	-0.2～3.0	室温 26 時間 -20°C 及び-70°C で凍結/融解 5 回 -20°C 及び-70°C で 181 日間
8337558 [redacted] LC-MS/MS	8338443	ウサギ	0.0200～20.0 （希釈係数 50 倍）	2.9～11.6	-5.5～4.0	室温で 24 時間 -20°C 及び-70°C で凍結/融解 5 回 -20°C 及び-70°C で 193 日間
8326554 [redacted] LC-MS/MS	8327888 8340050	イヌ	0.0100～20.0 （希釈係数 100 倍）	1.6～8.4	-3.3～0.7	室温で 24 時間 -20°C 及び-70°C で凍結/融解 5 回 -20°C 及び-70°C で 187 日間

略語：LC-MS/MS = 液体クロマトグラフ–タンデム型質量分析、%RE = 相対誤差（%）、% RSD = 相対標準偏差（%）

2.6.4.2.2　糖尿病ブタの血清中総インスリン濃度測定法

リスプロの薬力学及び薬物動態に及ぼすクエン酸及びトレプロスチニルの影響を探索的に評価するため、糖尿病 Yucatan ミニブタを用いた PK/PD 試験を実施した（DBT231、DBT232、DBT233 及び DBT253 試験）。これらの試験での血清中総インスリン（リスプロ+内因性インスリン）濃度の測定には、測定目的に適した信頼性を有するラジオイムノアッセイ（RIA）を用いた。総インスリン濃度の定量範囲は 20～5000 pmol/L であった。

2.6.4.3　放射性標識トレプロスチニル

報告書 CFQ42515（4.2.2.1.4）

トレプロスチニルの吸収、分布、代謝及び排泄の評価に用いた[^{14}C]トレプロスチニルの[^{14}C]標識位置を図 2.6.4-1 に示す。液体シンチレーションカウンターにより測定した比放射能は、150 μCi/mg であった。紫外線検出器付き高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した化学的純度は 99.1%であった。放射能検出器付き HPLC で測定した放射化学的純度は 99.6%、個々の不純物の最大量は 0.1%であった（報告書 CFQ42515）。

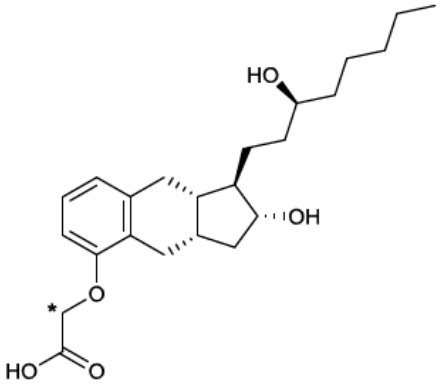


図 2.6.4-1. [^{14}C]トレプロスチニルの構造

[^{14}C]標識位置をアスタリスク（*）で示す。

2.6.4.4 吸収

2.6.4.4.1 トレプロスチニルの吸収

2.6.4.4.1.1 ラットにおけるトレプロスチニル単回投与時のファーマコキネティクス

報告書 8329342（4.2.2.2.1）

雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与（0.4 mg/kg）及び単回静脈内投与（0.2 mg/kg）した（報告書 8329342、2.6.5.3A）。皮下投与後の[^{14}C]トレプロスチニルの吸収は速やかであり、放射能及びトレプロスチニルの t_{max} はいずれも 0.25 時間であった。皮下及び静脈内投与後のいずれにおいても、トレプロスチニルの全身曝露量は循環血中放射能の 37%であった。皮下投与後のトレプロスチニルの消失半減期（$t_{1/2}$）が 2 時間未満であったのに対し、放射能の $t_{1/2}$ は約 31 時間であったことから、代謝物の消失は未変化体より緩やかであることが示唆された。トレプロスチニルの皮下投与時のバイオアベイラビリティは約 100%であった。

2.6.4.4.1.2 ラットにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス

報告書 8327887（4.2.3.2.2）、8340039（4.2.3.2.3）、8338440（4.2.3.5.1.1）、8338441（4.2.3.5.1.2）、8338442（4.2.3.5.2.2）、20104727（4.2.3.5.3.1）

雌雄ラットにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.01、0.03 及び 0.10 mg/kg の用量で 3 ヵ月間連日皮下投与した際（報告書 8327887）、並びにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.01 及び 0.10 mg/kg の用量で 6 ヵ月間連日皮下投与した際（報告書 8340039）の血漿中トレプロスチニルの TK を評価した。3 ヵ月間反復投与毒性試験では試験 1 及び 90 日の投与後に（2.6.7.7A）、6 ヵ月間反復投与毒性試験では試験 1、90 及び 180 日の投与後に（表 2.6.4-2、2.6.7.7B）、それぞれ TK パラメータを算出した。6 ヵ月間反復投与毒性試験で得られたトレプロスチニルの血漿中濃度−時間推移を図 2.6.4-2 に示す。ラットを用いた生殖発生毒性試験（報告書 8338440、8338441、8338442 及び 20104727）で得られた TK パラメータは 2.6.7.12A、2.6.7.12B、2.6.7.13A 及び 2.6.7.14A に示した。生殖発生毒性試験で得られた TK パラメータは反復投与毒性試験で得られたパラメータとおおむね類似していた。

ラットを用いたすべての毒性試験（報告書 8327887、8340039、8338440、8338441、8338442 及び 20104727）において、曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）は用量増加に伴ってほぼ用量比例的に増加した。T_{max} は全試験のすべての評価日において 0.5 時間（初回採血時点）であった。雌雄間の曝露量の差は 2 倍未満であった。6 試験のうち 5 試験で、ラットにおけるトレプロスチニルの曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）は試験 1 日目と試験終了時で同程度（2 倍未満の差）であった。投与期間によりトレプロスチニルの曝露量に差が認められたのは、6 ヵ月反復投与毒性試験の雄性ラットのみであった（報告書 8340039、表 2.6.4-2、2.6.7.7B）。すなわち、投与前及び投与 24 時間後の血漿中濃度はいずれの群においても定量下限（0.0200 ng/mL）未満であったが、試験 1 日目と比較した試験 90 及び 180 日目の $AUC_{0\text{-}24h}$ の累積係数は、雌で 1.4～2.0 であったのに対し、雄では 2.7～4.9 であった。

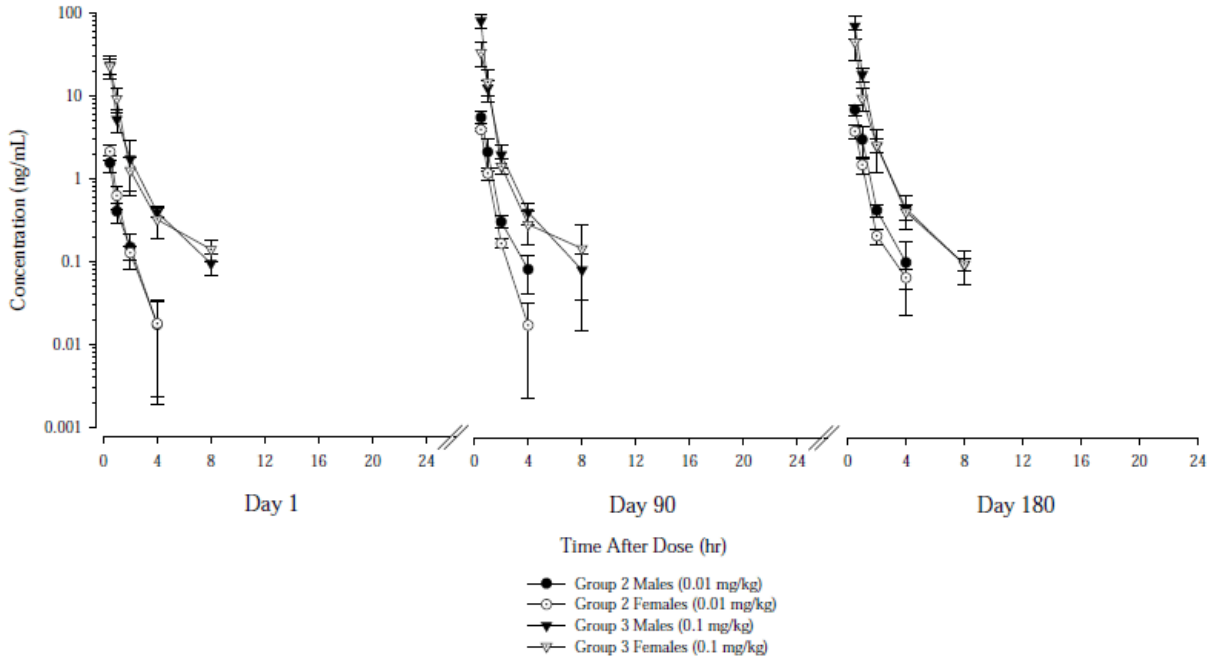
表 2.6.4-2. 雌雄ラットにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 6 ヵ月間連日皮下投与した際のトレプロスチニルの TK パラメータ（報告書 8340039）

	用量（トレプロスチニルとして、mg/kg/日）			
	0.01		0.1	
パラメータ　性：	雄	雌	雄	雌
1 日目				
C_{max} (ng/mL)	1.54	2.10	23.1	22.7
C_{max} (ng/mL)の SD	0.382	0.447	5.06	6.96
t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)[1]	1.35	1.76	20.1	22.5
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)の SEM	0.145	0.164	1.96	2.46
90 日目				
C_{max} (ng/mL)	5.55	3.94	81.2	33.7
C_{max} (ng/mL)の SD	0.918	0.184	15.1	11.2
t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)[1]	5.07	3.16	55.0	32.3
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)の SEM	0.508	0.108	4.49	4.54
180 日目				
C_{max} (ng/mL)	6.89	3.76	70.4	45.3
C_{max} (ng/mL)の SD	1.01	0.667	22.1	18.8
t_{max} (h)	0.500	0.500	0.500	0.500
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL) [1]	6.63	3.50	55.0	35.8
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)の SEM	0.648	0.266	6.82	5.63

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、SD = 平均値の標準偏差、SEM = 標準誤差、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

[1] Composite AUC

注：1 時点当たりの動物数は 1 群雌雄各 3 例（1 群あたりの総動物数は 9 例）。1 個体からは全採血時点（7 時点）のうち 2～3 時点のみで採血し、時点ごとの平均血漿中濃度を算出した。これらの平均血漿中濃度の時間推移から AUC（Composite AUC）を求めた。このため、個々のラット（1 例当たり）の $AUC_{0\text{-}24h}$ は求められず SD を算出できないことから SEM を算出した。また、平均血漿中濃度が最大となった測定時点を t_{max} とし、t_{max} における平均血漿中濃度を C_{max} とした。



注：投与 8 時間より後の血漿中濃度はすべて定量下限（0.0200 ng/mL）未満であった。

図 2.6.4-2. 雌雄ラットにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.01 及び 0.10 mg/kg の用量で連日皮下投与した際の試験 1、90 及び 180 日目におけるトレプロスチニル血漿中濃度（1 時点につき 1 群雌雄各 3 例の平均値 ± 標準偏差）（報告書 8340039）

2.6.4.4.1.3 妊娠ウサギにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス

報告書 8338443（4.2.3.5.2.4）

妊娠ウサギにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.05、0.14 及び 0.4 mg/kg の用量で連日皮下投与し、妊娠 7 及び 19 日に TK を評価した。トレプロスチニルの全身曝露量は用量増加に伴って増加したが、その増加には一貫した用量比例性は認められなかった。T_{max} は試験期間を通して 0.5～1.1 時間の範囲であった。妊娠 19 日目の曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）は、おおむね妊娠 7 日目の値より低かった（報告書 8338443、表 2.6.4-3、2.6.7.13B）。

表 2.6.4-3. 妊娠ウサギにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を連日皮下投与した際のトレプロスチニルの TK パラメータ（報告書 8338443）

	用量（トレプロスチニルとして、mg/kg/日）		
パラメータ（平均値）	**0.05**	**0.14**	**0.4**
妊娠 7 日			
C_{max} (ng/mL)	30.6	63.2	215
C_{max} (ng/mL)の SD	8.76	2.40	65.7
t_{max} (h)	0.5	0.625	0.625
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	83.6	197	687
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)の SD	5.89	19.8	68.5
妊娠 19 日			
C_{max} (ng/mL)	14.9	24.2	81.3
C_{max} (ng/mL)の SD	2.76	9.28	21.9
t_{max} (h)	0.763	1.13	0.750
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	58.8	137	370
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)の SD	3.06	18.8	49.7

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、SD = 平均値の標準偏差、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

注：1 群 4 例

2.6.4.4.1.4 イヌにおけるトレプロスチニル反復投与時のトキシコキネティクス

報告書 8327888（4.2.3.2.5）、8340050（4.2.3.2.6）

雌雄のイヌにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.004、0.015 及び 0.070 mg/kg の用量で 3 ヵ月間連日皮下投与した際（報告書 8327888）、並びにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.004 及び 0.070 mg/kg の用量で 6 ヵ月間連日皮下投与した際（報告書 8340050）の血漿トレプロスチニルの TK を評価した。3 ヵ月間反復投与毒性試験では試験 1 及び 92 日の投与後に（2.6.7.7C）、6 ヵ月間反復投与毒性試験では試験 1、90 及び 180 日の投与後に（表 2.6.4-4、2.6.7.7D）、それぞれ TK パラメータを算出した。

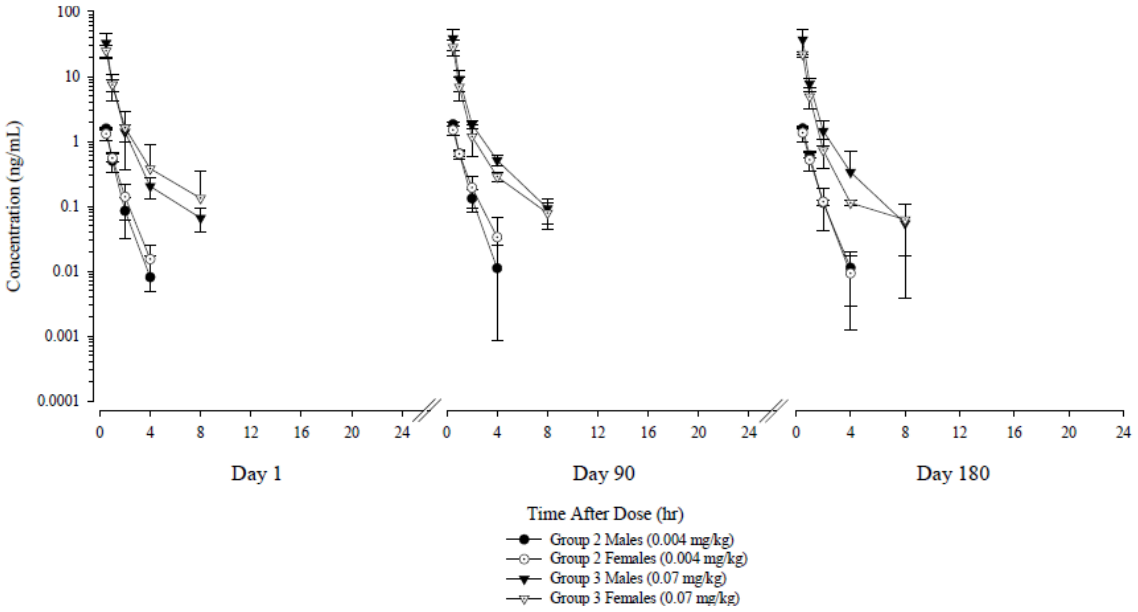
3 ヵ月間及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験における曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）は用量増加に伴ってほぼ用量比例的に増加した。T_{max} はいずれの評価日においても 0.5 時間（初回採血時点）であった（図 2.6.4-3）。雌雄間の曝露量の差は 2 倍未満であった。試験 1 日目と試験終了時（試験 92 又は 182 日目）における曝露量を比較したところ、蓄積は認められなかった。

表 2.6.4-4 雌雄イヌにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 6 ヵ月間連日皮下投与した際のトレプロスチニルの TK パラメータ（報告書 8340050）

	用量（トレプロスチニルとして、mg/kg/日）			
	0.004		0.070	
パラメータ（平均値）　性：	雄	雌	雄	雌
1 日目				
C_{max} (ng/mL)	1.58	1.31	32.9	24.8
C_{max} (ng/mL)の SD	0.0932	0.270	12.8	5.96
t_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	1.34	1.33	26.0	22.9
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)の SD	0.285	0.0804	9.57	4.22
90 日目				
C_{max} (ng/mL)	1.88	1.53	39.6	29.0
C_{max} (ng/mL)の SD	0.118	0.266	14.2	7.74
t_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	1.67	1.73	32.1	23.3
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)の SD	0.0919	0.303	9.68	6.14
180 日目				
C_{max} (ng/mL)	1.62	1.39	37.9	22.5
C_{max} (ng/mL)の SD	0.0476	0.366	16.0	2.32
t_{max} (h)	0.50	0.50	0.50	0.50
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	1.49	1.30	28.7	17.1
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)の SD	0.0375	0.424	7.53	1.75

略語：AUC_{0-24h} = 0 時間から投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、SD = 平均値の標準偏差、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

注：1 群の動物数は雌雄各 4 例。ただし、試験 180 日目における第 2 群の雌のみ 3 例。



注：0.004 及び 0.070 mg/kg 投与群のそれぞれ投与 4 及び 8 時間より後の血漿中濃度はすべて定量下限（0.0200 ng/mL）未満であった。1 群の動物数は雌雄各 4 例。ただし、試験 180 日目における第 2 群の雌のみ 3 例。

図 2.6.4-3. 雌雄イヌにトレプロスチニル（ナトリウム塩）を 0.004 又は 0.070 mg/kg の用量で連日皮下投与した際の試験 1、90 及び 180 日目におけるトレプロスチニル血漿中濃度（平均値 ± 標準偏差）（報告書 8340050）

2.6.4.4.2 種々のリスプロ試験製剤でのリスプロの吸収

報告書 DBT231（4.2.1.1.4）、DBT232（4.2.1.1.5）、DBT233（4.2.1.1.6）DBT253（4.2.1.1.7）

リスプロの PK 及び PD に及ぼすクエン酸及びトレプロスチニルの影響を評価するため、クエン酸及び／又はトレプロスチニルを含有する種々のリスプロ試験製剤を雄性糖尿病 Yucatan ミニブタに投与する PK/PD 試験を実施した（DBT231、DBT232、DBT233 及び DBT253 試験）（リスプロの PD への影響は 2.6.2.2.4 参照）。異なる量のクエン酸及びトレプロスチニルを組み合わせた 4 試験を実施したが、各々の試験デザインは類似していた。すなわち、投与前日の夕方に各動物の正常インスリン値を測定し、絶食させた。投与日の朝、動物が飼料を完食したことを確認した 20 分後に、ヒューマログ又は LY900014 試験製剤（リスプロ、クエン酸及びトレプロスチニルを含有）を 0.2 U/kg の用量で皮下投与し、血漿中の総インスリン濃度を経時的に測定した。リスプロの PK パラメータを製剤間で統計学的に比較するために、糖尿病ブタを用いたすべての試験において、製剤及び期間を固定効果とし、動物を変量効果として、混合効果分散分析を実施した。また、分散を安定化させるため、PK パラメータの対数を算出した。DBT231、DBT232 及び DBT233 試験では Tukey の方法によりすべての製剤間での 2 群間比較を実施した（2.6.5.3B、2.6.5.3C、2.6.5.3D、2.6.5.3E 参照）。市販予定製剤と同じ濃度のクエン酸及びトレプロスチニルを含む LY900014 試験製剤（133D）とヒューマログとを比較した DBT253 試験では、繰り返し測定値に関する混合効果モデル解析による t 検定を用いた。

最初の試験（報告書 DBT231）では、クエン酸（[redacted]mM）又はトレプロスチニル（[redacted]μg/mL）のいずれか、もしくはクエン酸（[redacted]mM）及びトレプロスチニル（[redacted]μg/mL）の両方を含有する LY90014 試験製剤（100 U/mL）をヒューマログ（100 U/mL）と比較した。LY90014 試験製剤群をヒューマログ対照群と比較した結果、すべての t_{max} 関連パラメータ（t_{max}、Early 50% t_{max} 及び Late 50% t_{max}）に統計学的有意差が認められた（表 2.6.4-5、2.6.5.3B）。LY90014 試験製剤群とリスプロとクエン酸のみを含む製剤群とを比較すると Late 50% t_{max} に有意差が認められ、リスプロとトレプロスチニルのみを含む製剤群との比較ではすべての t_{max} 関連パラメータに有意ではないものの差が認められた。曝露量（$AUC_{0-\infty}$及び C_{max}）はすべての投与群間で同程度（2 倍未満の差）であったが、LY900014 試験製剤群とヒューマログ対照群との間で C_{max} に統計学的有意差が認められた。

表 2.6.4-5 雄性糖尿病ブタにヒューマログ（0.2 U/kg）又は種々のリスプロ製剤（0.2 U/kg）を投与した際の血清中総インスリンの PK パラメータ（平均値 ± 標準誤差）（報告書 DBT231）

製剤	C_{max} (pmol/L)	$AUC_{0-\infty}$ (pmol•h/L)	CL/F (L/h)	t_{max} (min)	Early 50% t_{max} (min)	Late 50% t_{max} (min)
100 U/mL リスプロ（ヒューマログ）	980 ± 171	2583 ± 383	27.8 ± 3.0	71.3 ± 7.3	29.6 ± 4.1	175 ± 14
100 U/mL リスプロ + ■■mM クエン酸	1300 ± 240 NS [a]	2400 ± 333 NS [a]	28.6 ± 3.0 NS [a]	55.5 ± 7.8 NS [a]	16.5 ± 4.9 p=0.0009 [a]	130 ± 12 NS [a]
100 U/mL リスプロ + ■■■µg/mL トレプロスチニル	1250 ± 280 NS [a]	2533 ± 400 NS [a]	28.6 ± 3.0 NS [a]	74.2 ± 7.6 NS [a]	24.1 ± 3.8 NS [a]	146 ± 12 NS [a]
100 U/mL リスプロ +■■ mM クエン酸 +■■µg/mL トレプロスチニル（LY900014 試験製剤）	1600 ± 460 p=0.021	2667 ± 533 NS [a]	29.2 ± 3.2 NS [a]	42.1 ± 6.6 p=0.0048 [a]	15.9 ± 3.9 p=0.0019 [a]	98.5 ± 13.4 p<0.0001 [a]

略語：$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血清中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血清中濃度、CL/F = 見かけのクリアランス、Early 50% t_{max} = C_{max} の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間、Late 50% t_{max} = t_{max} 後に C_{max} の 1/2 の濃度に低下するまでの時間、NS = 有意差なし、t_{max} = 最高血清中濃度到達時間

[a] ヒューマログ（クエン酸及びトレプロスチニル非含有）との比較

注：薬物動態試験及び統計学的解析には 1 群 18～20 例の動物を使用。ヒューマログ対照群との統計学的比較には混合効果分散分析を使用し、製剤及び期間を固定効果、動物を変量効果とした。また、分散を安定化させるため、薬物動態パラメータの対数を算出した。

2 番目の試験（報告書 DBT232）では、クエン酸（■■mM）又はトレプロスチニル（■■µg/mL）のいずれか、もしくはクエン酸（■■mM）及びトレプロスチニル（■■µg/mL）の両方を含有するリスプロ試験製剤（100 U/mL）をヒューマログ（100 U/mL）と比較した。LY90014 試験製剤群では、ヒューマログ対照群と比較して、t_{max}、Early 50% t_{max} 及び Late 50% t_{max} に差が認められた（表 2.6.4-6、2.6.5.3C）。曝露量（$AUC_{0-\infty}$及び C_{max}）及びクリアランスはすべての群で同程度（2 倍未満の差）であったが、トレプロスチニルとリスプロを含有する製剤群とヒューマログ対照群との間で C_{max} に統計学的有意差が認められた。

表 2.6.4-6 雄性糖尿病ブタにヒューマログ（0.2 U/kg）又は種々のリスプロ製剤（0.2 U/kg）を投与した際の血清中総インスリンの PK パラメータ（平均値 ± 標準誤差）（報告書 DBT232）

製剤	C_{max} (pmol/L)	$AUC_{0-\infty}$ (pmol•h/L)	CL/F (L/h)	t_{max} (min)	Early 50% t_{max} (min)	Late 50% t_{max} (min)
100 U/mL リスプロ（ヒューマログ）	939 ± 327	2167 ± 483	31.7 ± 3.4	69.7 ± 12.5	17.8 ± 4.1	168 ± 20
100 U/mL リスプロ + ■■mM クエン酸	935 ± 338 NS [a]	2450 ± 767 NS [a]	32.3 ± 3.6 NS [a]	53.8 ± 10.3 NS [a]	6.46 ± 0.55 p=0.0048 [a]	151 ± 15 NS [a]
100 U/mL リスプロ + ■■μg/mL トレプロスチニル	1800 ± 460 p=0.0318 [a]	2617 ± 433 NS [a]	25.6 ± 2.5 NS [a]	54.2 ± 7.3 NS [a]	23.1 ± 4.8 NS [a]	110 ± 11 p=0.0777 [a]
100 U/mL リスプロ + ■■mM クエン酸 + ■■μg/mL トレプロスチニル（LY900014 試験製剤）	1540 ± 430 NS [a]	2533 ± 517 NS [a]	28.1 ± 2.8 NS [a]	39.5 ± 5.0 p=0.0767 [a]	9.85 ± 1.77 p=0.0727 [a]	109 ± 11 p=0.0568 [a]

略語：$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血清中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血清中濃度、CL/F = 見かけのクリアランス、Early 50% t_{max} = C_{max} の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間、Late 50% t_{max} = t_{max} 後に C_{max} の 1/2 の濃度に低下するまでの時間、NS = 有意差なし（p>0.1）、t_{max} = 最高血清中濃度到達時間

[a] ヒューマログ（クエン酸及びトレプロスチニル非含有）との比較

注：薬物動態試験及び統計学的解析には 1 群 15～19 例の動物を使用。ヒューマログ対照群との統計学的比較には混合効果分散分析を使用し、製剤及び期間を固定効果、動物を変量効果とした。また、分散を安定化させるため、薬物動態パラメータの対数を算出した。

3 番目の試験（報告書 DBT233）では、リスプロ（100 U/mL）をクエン酸（■■mM）又はトレプロスチニル（■■μg/mL）のいずれか、もしくはクエン酸（■■mM）とトレプロスチニル（■■μg/mL）の組合せ、クエン酸（■■mM）とトレプロスチニル（■■μg/mL）の組合せ又はクエン酸（■■mM）とトレプロスチニル（■■μg/mL）の組合せを用いて製剤化した。クエン酸及びトレプロスチニルを組み合わせた LY90014 試験製剤群は、t_{max} パラメータが短くなる傾向は認められたが、ヒューマログ対照群、クエン酸のみを用いたリスプロ製剤群又はトレプロスチニルのみを用いたリスプロ製剤群と比較して、いずれのパラメータにも統計学的有意差は認められなかった（表 2.6.4-7、2.6.5.3D）。総インスリン曝露量（$AUC_{0-\infty}$及び C_{max}）はすべての群において同程度であった（投与群間で統計学的有意差なし）。

表 2.6.4-7 雄性糖尿病ブタにヒューマログ（0.2 U/kg）又は種々のリスプロ製剤（0.2 U/kg）を投与した際の血清中総インスリンの PK パラメータ（平均値 ± 標準誤差）（報告書 DBT233）

製剤	C_{max} (pmol/L)	$AUC_{0-\infty}$ (pmol•h/L)	CL/F (L/h)	t_{max} (min)	Early 50% t_{max} (min)	Late 50% t_{max} (min)
100 U/mL リスプロ（ヒューマログ）	1040 ± 380	2000 ± 267	30.4 ± 2.8	60.0 ± 7.6	22.9 ± 5.8	152 ± 17
100 U/mL リスプロ + ■mM クエン酸	1150 ± 370	2033 ± 183	28.9 ± 2.8	57.1 ± 9.5	16.0 ± 3.5	144 ± 16
100 U/mL リスプロ + ■μg/mL トレプロスチニル	821 ± 292	1733 ± 317	38.4 ± 4.1	55.3 ± 5.3	13.7 ± 1.5	139 ± 9
100 U/mL リスプロ + ■mM クエン酸 + ■μg/mL トレプロスチニル（LY900014 試験製剤）	740 ± 127	1717 ± 200	36.4 ± 4.4	55.0 ± 6.2	15.8 ± 2.2	136 ± 10
100 U/mL リスプロ + ■mM クエン酸 + ■μg/mL トレプロスチニル（LY900014 試験製剤）	993 ± 215	1867 ± 150	30.7 ± 3.1	50.0 ± 7.2	13.2 ± 2.1	121 ± 10
100 U/mL リスプロ + ■mM クエン酸 + ■μg/mL トレプロスチニル（LY900014 試験製剤）	870 ± 186	1833 ± 217	32.5 ± 3.1	52.5 ± 7.4	11.7 ± 1.5	139 ± 18

略語：$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血清中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血清中濃度、CL/F = 見かけのクリアランス、Early 50% t_{max} = C_{max} の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間、Late 50% t_{max} = t_{max} 後に C_{max} の 1/2 の濃度に減少するまでの時間、t_{max} = 最高血清中濃度到達時間

注：1 群の動物数は 15～17 例。ヒューマログ対照群との統計学的比較には混合効果分散分析を使用し、製剤及び期間を固定効果、動物を変量効果とした。また、分散を安定化させるため、薬物動態パラメータの対数を算出した。いずれの比較においても統計学的有意差は認められなかった（P<0.1）。

4 番目の試験（報告書 DBT253）では、市販予定製剤と同じ濃度のクエン酸（■mM）及びトレプロスチニル（■μg/mL）を含む LY900014 試験製剤（133D）をヒューマログ（100 U/mL）と比較した。LY900014 試験製剤（133D）群は、複数の PK パラメータについてヒューマログ対照群との統計学的有意差を示した（表 2.6.4-8、2.6.5.3E）。特に、Early 50% t_{max} はヒューマログ対照群の 29.7 ± 3.7 分（n=18）から LY900014 試験製剤（133D）群の 12.9 ± 1.9 分（n=17）に有意に短縮し（p=0.0002）、極めて速い吸収が確認された。Late 50% t_{max} もヒューマログ対照群の 169 ± 16 分から LY900014 試験製剤（133D）群の 129 ± 11 分に有意に短縮した（p=0.011）。

表 2.6.4-8 雄性糖尿病ブタにヒューマログ（0.2 U/kg）又は LY900014（133D）製剤（0.2 U/kg）を投与した際の血清中総インスリンの PK パラメータ（平均値 ± 標準誤差）（報告書 DBT253）

製剤	C_{max} (pmol/L)	$AUC_{0-\infty}$ (pmol•h/L)	CL/F (L/h)	t_{max} (min)	Early 50% t_{max} (min)	Late 50% t_{max} (min)
100 U/mL リスプロ（ヒューマログ）	525 ± 54	1700 ± 233	42.6 ± 4.7	92.5 ± 9	29.7 ± 3.7	169 ± 16
100 U/mL リスプロ +[redacted]mM クエン酸 +[redacted]µg/mL トレプロスチニル〔LY900014（133D）製剤〕	1090 ± 240 p≤0.001 [a]	2550 ± 400 p≤0.001 [a]	30.0 ± 3.2 p≤0.001 [a]	54.7 ± 6.7 p=0.0049 [a]	12.9 ± 1.9 p=0.0002 [a]	129 ± 11 p=0.011 [a]

略語：$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血清中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血清中濃度、CL/F = 見かけのクリアランス、Early 50% t_{max} = C_{max} の 1/2 の濃度に最初に到達するまでの時間、Late 50% t_{max} = t_{max} 後に C_{max} の 1/2 の濃度に低下するまでの時間、t_{max} = 最高血清中濃度到達時間

a ヒューマログ（クエン酸及びトレプロスチニル非含有）との比較

注：薬物動態試験及び統計学的解析には 1 群 15～18 例の動物を使用。ヒューマログ対照群との統計学的比較には混合効果分散分析を使用し、製剤及び期間を固定効果、動物を変量効果とした。また、分散を安定化させるため、薬物動態パラメータの対数を算出した。

糖尿病ブタモデルにおけるばらつきを低減するため、多数の動物（1 群 15～20 例）を使用し、製剤間の比較における統計学的検出力の向上を試みたものの、糖尿病ブタを用いた 4 つの PK/PD 試験を通して、薬物動態パラメータに試験内及び試験間の大きなばらつきが認められた。

ヒューマログ対照群の Early 50% t_{max} は 4 試験で 17.8～29.7 分の範囲であったが、LY900014 試験製剤群の平均値は 12.9 分であった。ヒューマログ対照群の Late 50% t_{max} は 4 試験で 152～175 分の範囲であったが、LY900014 試験製剤群の平均値は 129 分であった。4 番目の試験（報告書 DBT253）では、LY900014 試験製剤（133D）群とヒューマログ対照群の間で、曝露量（AUC 及び C_{max}）に統計学的有意差が認められた。しかしながら、DBT253 試験における LY900014 試験製剤（133D）群の AUC（2550 pmol·h/L）及び C_{max}（1090 pmol/L）は DBT231、DBT232 及び DBT233 試験におけるヒューマログ対照群の AUC（2000～2583 pmol·h/L）、C_{max}（939～1040 pmol/L）の範囲と同程度であった。

2.6.4.5 分布

2.6.4.5.1 トレプロスチニルの分布

報告書 8329342（4.2.2.2.1）

雄性有色ラット（Long Evans）及び雄性非有色ラット（Sprague Dawley）での組織分布を定量的全身オートラジオグラフィーにより、それぞれ投与 168 及び 72 時間後まで評価した（報告書 8329342、2.6.5.5A 及び 2.6.5.5B）。非有色ラットにおける分布傾向は有色ラットとおおむね類似していた。雄性有色ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与したとき、放射能は組織及び臓器に広範に分布し、メラニン含有組織への選択的な結合は認められなかった。高い放射能濃度を示した組織は、投与部位、肝臓、腎臓及び血漿であった。トレプロスチニルの平均分布容積は血漿中総放射能から求めた分布容積の約 1/5 であった。血漿中総放射能から求めた分布容積はラットの総体内水分量（Davies and Morris 1993）よりも大きかったことから、放射能はトレプロスチニルより広範に分布することが示唆された。[^{14}C]トレプロスチニル由来の放射能は、投与 48 時間後までに組織及び臓器からほぼ完全に消失した。

2.6.4.5.2 LY900014 の分布

リスプロの分布は、添加剤であるトレプロスチニル及びクエン酸の存在下でも変化しないと予想されるため、トレプロスチニル及びクエン酸存在下でのリスプロの組織分布に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.6 代謝

2.6.4.6.1 トレプロスチニルの代謝

報告書 8329343（4.2.2.4.1）、報告書 8333362（4.2.2.4.2）

ラットに[^{14}C]トレプロスチニル（0.4 mg/kg）を単回皮下投与した際の尿、糞、胆汁及び血漿を用いて、代謝物プロファイルを検討した（8329343 試験）。また、ラット及びヒトの肝細胞と共に[^{14}C]トレプロスチニルを最長 240 分間インキュベートした際の in vitro 代謝物プロファイルも検討した（8333362 試験）。

胆管カニューレ装着ラットでは、投与放射能の約 93%が胆汁中に、6%が尿中に回収された（8329343 試験）。血漿、尿、胆汁及び糞検体で未変化体及び 22 種類の代謝物が同定され、[^{14}C]トレプロスチニルは広範に代謝されることが示唆された（2.6.5.9A 及び 2.6.5.9B）。

無処置ラットのプール血漿検体（0.25～24 時間の AUC）中で、最も多く認められた成分は未変化体であり（血漿中総放射能の 35%）、次いで酸化代謝物である 3-ケト-オクチル体 M18（24%）、M26（未変化体-4H、11%）及び M19（M18-2H、8%）が多く認められた。その他の代謝物はいずれも血漿中総放射能の 5%未満であった。

ラット胆汁中では、未変化体が投与量の約 1%を占め、5 種類の代謝物がそれぞれ 5%以上を占めていた。それらの代謝物（投与量に対する%）は、M18（17%）、M10（3-ケト-オクチル体のグルクロン酸抱合体、12%）、M3（3-ケト-オクチル体のω-酸化及びβ-酸化体、8%）、M21（タウリン抱合体、7%）並びに M15（トレプロスチニルの 3-ヒドロキシオクチル側鎖の水酸化及びシクロペンチルアルコール部位の酸化によるケトン生成の組合せで生じる二次代謝物、5%）であった。ラットにおけるトレプロスチニルの主要な in vivo 推定代謝経路を 2.6.5.11A に示す。

ラット胆汁中には、数種類の二次代謝物も微量認められた。M18 の還元により、トレプロスチニルのエピマーに相当する M17 が生成した。また、トレプロスチニルの脂肪族オクチル鎖のω-酸化代謝物（M24）が同定された。ω-酸化後のβ-酸化により、M27 から M2 が生成し、M24 から M3 が生成した。数種類の二次代謝物は、3-ヒドロキシオクチル側鎖での反応及びヘキサヒドロベンジルインデン環での反応の組合せにより生成した。これらの代謝物は、M15（3-ヒドロキシオクチル側鎖の水酸化及びシクロペンチルアルコールからケトンの生成）、M19（シクロペンチルアルコールからケトンの生成及び 3-ヒドロキシオクチルから 3-ケト-オクチルの生成）及びその他数種類の微量代謝物であった。また、トレプロスチニルのオクチル側鎖及び／又はシクロペンチル環における一連の脱水素反応及び／又は水酸化／脱水反応により、M26 の生成が説明可能である。3 種類のグルクロン酸抱合体として、M6 及び M11（いずれもトレプロスチニルの直接的グルクロン酸抱合化により生成）並びに M10（M18 のグルクロン酸抱合体）が認められた。

ラット及びヒトの肝細胞におけるトレプロスチニルの in vitro 代謝は、主として分子上の種々の部位での酸化を介したものであり、水酸化及び脱水素化の組合せが含まれていた（報告書 8333362）。酸化及び抱合化の両方を受けて生成した代謝物も微量に見られた。ヒト肝細胞とのインキュベーションで確認されたすべての代謝物は、ラット肝細胞でも認められた。ヒト及びラットの肝細胞と 4 時間インキュベーションしたとき、未変化体はそれぞれ約 40%及び 11%残存していた。ラット又はヒトの肝細胞で同定されたすべての代謝物の一覧を 2.6.5.10A に示す。

ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与した際の主要な in vivo 代謝経路は、in vitro での代謝経路と類似していた。

以上の試験中では検討していないが、in vitro において、トレプロスチニルは主に CYP2C8 で代謝されるが、作用は弱いものの CYP2C9 でも代謝されることが報告されている（Peterson 2013）。

2.6.4.6.2 LY900014 の代謝

リスプロの代謝は、添加剤であるトレプロスチニル及びクエン酸の存在下でも変化しないと予想されるため、トレプロスチニル及びクエン酸存在下でのリスプロの代謝に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.7 排泄

2.6.4.7.1 トレプロスチニルの排泄

報告書 8329342（4.2.2.2.1）

雄性ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを単回皮下投与した際の主要排泄経路は、代謝物としての肝胆汁中及び糞中排泄であり、放射能の胆汁中排泄率は投与量の約 93%であった（報告書 8329342、表 2.6.4-9、2.6.5.13A）。胆管カニューレ装着雄性ラットの胆汁中及び尿中回収率の合計から判断すると、皮下投与量の少なくとも 98%が吸収されたことが示唆された。

表 2.6.4-9.無処置及び胆管カニューレ装着雄性ラットに [^{14}C]トレプロスチニル（0.4 mg/kg）を単回皮下投与した際の放射能回収率（1 群 4 例、平均値 ± 標準偏差）（報告書 8329342）

	放射能回収率（対投与量%）						
採取期間（時間）	無処置ラット（0～168 時間）			胆管カニューレ装着ラット（0～72 時間）			
	尿 [a]	糞 [a]	合計 [b]	尿 [a]	胆汁 [a]	糞 [a]	合計 [b]
0～6	4.3 ± 1.2	85.4 ± 3.3	4.3 ± 1.2	5.6 ± 2.3	91.3 ± 3.4	0.8 ± 1.1	91.3 ± 3.4
6～12					1.0 ± 0.3		6.5 ± 2.6
12～24	0.4 ± 0.1		85.9 ± 3.3	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.0		1.4 ± 1.1
24～48	0.1 ± 0.1	5.5 ± 3.0	5.6 ± 3.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.2
48～72	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.3	0.5 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2
72～96	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	NS	NS	NS	NA
96～120	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	NS	NS	NS	NA
120～144	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	NS	NS	NS	NA
144～168	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.1	NS	NS	NS	NA
合計	4.9 ± 1.2	91.4 ± 0.7	96.9 ± 1.2	5.9 ± 2.4	92.6 ± 3.3	1.0 ± 1.3	100 ± 1

略語：NA = 該当なし、NS = 胆管カニューレ装着ラットの検体採取最終時点は投与 72 時間後

a 初期の採取期間は、尿：0～12 及び 12～24 時間、胆汁：0～6、6～12 及び 12～24 時間、糞：0～24 時間。

b ケージリンス、ケージ洗浄液、ケージ拭取り、残存屍体並びに胆管カニューレ及びジャケットリンスの総回収率の合計は、無処置ラットで投与量の 0.65%、胆管カニューレ装着ラットで投与量の 0.84%。

2.6.4.7.2 LY900014 の排泄

リスプロの排泄は、添加剤であるトレプロスチニル及びクエン酸の存在下でも変化しないと予想されるため、トレプロスチニル及びクエン酸存在下でのリスプロの排泄に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.8 薬物動態学的相互作用

リスプロの薬物動態学的相互作用を評価する非臨床試験は実施していない。トレプロスチニル又はクエン酸の薬物動態学的相互作用試験も実施していない。クエン酸は医薬品添加剤として承認されている。LY900014 製剤に含まれる微量のトレプロスチニルを投与した際の循環血中トレプロスチニル濃度は低く、薬物相互作用を誘発する可能性は低いと考えられる。

2.6.4.9 その他の薬物動態試験

雄性糖尿病 Yucatan ミニブタに、トレプロスチニル及び／又はクエン酸を含む種々のリスプロ製剤を投与した際の薬物動態試験の結果は 2.6.4.4.2 に示した。

2.6.4.10 考察及び結論

糖尿病ブタモデルを用いて LY900014 試験製剤（トレプロスチニル及びクエン酸を含むリスプロ製剤）の吸収プロファイルを評価した。また、一連の非臨床試験により、トレプロスチニルの吸収、分布、代謝及び排泄を評価した。

糖尿病 Yucatan ミニブタを用いて、種々の量のクエン酸及び／又はトレプロスチニルと共にリスプロを製剤化した際の薬物動態の変化を評価するために 4 件の試験を実施した。糖尿病ブタにリスプロをクエン酸及び／又はトレプロスチニルと共に皮下投与したとき、リスプロの速やかな吸収が見られた。市販予定製剤と同じ濃度のクエン酸及びトレプロスチニルを含む LY900014 試験製剤（133D）を用いた 4 番目の試験（報告書 DBT253）では、Early 50% t_{max} はヒューマログ対照群の 29.7 ± 3.7 分から LY900014 試験製剤（133D）群の 12.9 ± 1.9 分に短縮した。Late 50% t_{max} もヒューマログ対照群の 169 ± 16 分から LY900014 試験製剤（133D）群の 129 ± 11 分に短縮した。

ラット及びイヌにトレプロスチニルを皮下投与した際の曝露量は用量の増加に伴ってほぼ用量比例的に増加し、反復投与時の蓄積は認められなかった。TK パラメータに一貫した明らかな性差は見られなかった。トレプロスチニルの主要な代謝経路は酸化であり、水酸化及び脱水素化の組合せも見られた。ヒト肝細胞とのインキュベーションで確認されたすべての代謝物は、ラット肝細胞でも認められた。ラットに[^{14}C]トレプロスチニルを皮下投与したとき、放射能は組織及び臓器に広範に分布し、メラニン含有組織への選択的な結合は認められなかった。トレプロスチニルの主要な排泄経路は、代謝物としての肝胆汁／糞中排泄であった。ラット、ウサギ及びイヌを用いた毒性試験の TK データから、0.005～0.400 mg/kg/日の用量範囲でトレプロスチニルの高い曝露が投与期間を通して確認された。LY900014 製剤中に含まれるトレプロスチニルの量は少量（リスプロ 1 単位当たりトレプロスチニル 10 ng）であり、ヒトでの曝露量を毒性試験で求められた無毒性量での曝露量と比較した際の安全域は十分に広かった（表 2.6.6.15）。

2.6.4.11　図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.4.12　参考文献

Davies B, Morris T. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. *Pharmaceut Res.* 1993;10(7):1093-1095.

Peterson L, Marbury T, Marier J, Laliberte K. An evaluation of the pharmacokinetics of treprostinil diolamine in subjects with hepatic impairment. *J Clin Pharmacy Ther*. 2013;38:518-523.

トレプロスト注射液［添付文書］持田製薬株式会社，2017 年 5 月改訂（第 3 版）Available at: https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/790005_2190416A1024_1_05. Accessed Feb. 21, 2019.

ルムジェブ注カート
ルムジェブ注ミリオペン
ルムジェブ注ミリオペン HD
ルムジェブ注 100 単位/mL

2.6.5　薬物動態試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.5 Pharmacokinetics Tabulated Summary 1
2.6.5.1 Pharmacokinetics: Overview 1
2.6.5.1A Treprostinil: Overview 1
2.6.5.1B Development Formulations and LY900014 Formulation: Overview 2
2.6.5.2 Analytical Methods and Validation Reports 3
2.6.5.3 Absorption after Single Dose Administration 4
2.6.5.3A Absorption after a Single Dose in Rats (Treprostinil) 4
2.6.5.3B Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations) 5
2.6.5.3C Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations) 6
2.6.5.3D Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations) 7
2.6.5.3E Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in LY900014) 8
2.6.5.4 Absorption after Repeated Doses of Treprostinil 9
2.6.5.5 Organ Distribution 10
2.6.5.5A Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Pigmented (Long Evans) Rats 10
2.6.5.5B Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Non-Pigmented (Sprague Dawley) Rats12
2.6.5.6 Plasma Protein Binding (Not Applicable) 14
2.6.5.7 Placental Transfer in Species (Not Applicable) 14
2.6.5.8 Other Distribution Studies (Not Applicable) 14
2.6.5.9 Metabolism In Vivo 15
2.6.5.9A In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): Identified Metabolites 15
2.6.5.9B In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): Percent of Dose for Treprostinil and Metabolites in Bile, Urine, and Feces 17
2.6.5.10 Metabolism In Vitro 19
2.6.5.10A Metabolism In Vitro (Treprostinil) 19
2.6.5.11 Proposed Metabolic Pathways 21
2.6.5.11A Proposed In Vivo Metabolic Pathways in Rats (Treprostinil) 21
2.6.5.12 Induction/Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes (Not Applicable) 22
2.6.5.13 Excretion 23
2.6.5.13A Excretion in Intact Rats and Bile-Duct Cannulated Rats (Treprostinil) 23
2.6.5.14 Drug-Drug Interactions (Not Applicable) 25

2.6.5 Pharmacokinetics Tabulated Summary

2.6.5.1 Pharmacokinetics: Overview

2.6.5.1A Treprostinil: Overview

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID (Location in CTD)
Absorption				
Single-dose PK	Rat	SC, IV	[redacted], USA	8329342 (4.2.2.2.1)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	8327887 (4.2.3.2.2)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	8340039 (4.2.3.2.3)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	8338440 (4.2.3.5.1.1)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	8338441 (4.2.3.5.1.2)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	8338442 (4.2.3.5.2.2)
Multiple-dose TK	Rat	SC	[redacted], USA	20104727 (4.2.3.5.3.1)
Multiple-dose TK	Rabbit	SC	[redacted], USA	8338443 (4.2.3.5.2.4)
Multiple-dose TK	Dog	SC	[redacted], USA	8327888 (4.2.3.2.5)
Multiple-dose TK	Dog	SC	[redacted], USA	8340050 (4.2.3.2.6)
Distribution				
QWBA	Rat	SC	[redacted], USA	8329342 (4.2.2.2.1)
Metabolism				
In vivo metabolism	Rat	SC	[redacted], USA	8329343 (4.2.2.4.1)
In vitro metabolism	Rat, human	In vitro	[redacted], USA	8333362 (4.2.2.4.2)
Excretion				
Elimination	Rat	SC	[redacted], USA	8329342 (4.2.2.2.1)
Pharmacokinetic Drug Interactions				
Not applicable				
Other Studies				
Not applicable				

Abbreviations: IV = intravenous; PK = pharmacokinetics; QWBA = quantitative whole-body autoradiography; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics.

2.6.5.1B Development Formulations and LY900014 Formulation: Overview

Development Formulations and LY900014 Formulation (Insulin Lispro + Treprostinil + Citrate)				
Type of Study	**Test System**	**Route**	**Testing Facility**	**Document ID (Location in CTD)**
Absorption				
Single dose pharmacokinetics (Development formulations)	Miniature swine	SC	[redacted], USA	DBT231 (4.2.1.1.4)
Single dose pharmacokinetics (Development formulations)	Miniature swine	SC	[redacted], USA	DBT232 (4.2.1.1.5)
Single dose pharmacokinetics (Development formulations)	Miniature swine	SC	[redacted], USA	DBT233 (4.2.1.1.6)
Single dose pharmacokinetics (LY900014 formulation)	Miniature swine	SC	[redacted], USA	DBT253 (4.2.1.1.7)
Distribution				
Not applicable				
Metabolism				
Not applicable				
Excretion				
Not applicable				
Pharmacokinetic Drug Interactions				
Not applicable				
Other Studies				
Not applicable				

Abbreviations: SC = subcutaneous.

2.6.5.2 Analytical Methods and Validation Reports

See the Pharmacokinetic Written Summary, Module 2.6.4.

2.6.5.3 Absorption after Single Dose Administration

2.6.5.3A Absorption after a Single Dose in Rats (Treprostinil)

Study Title: Pharmacokinetics, Bioavailability, Distribution, Metabolism, and Elimination of [^{14}C] Treprostinil in Male Sprague Dawley and Male Long Evans Rats Following a Single 0.4 mg/kg Subcutaneous Dose or 0.2 mg/kg Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil						
Sample: Blood and plasma			Document ID: 8329342			
Analyte: [^{14}C]treprostinil			Location in CTD: 4.2.2.2.1			
Species / Strain / Sex: Rat / Sprague Dawley / Male	Vehicle / Formulation: 15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution					
Number of animals: 5 (SC) and 3 (IV) / time point	Route: Subcutaneous (SC) and intravenous (IV)					
Feeding condition: Fasted	Dose: 0.4 mg/kg SC and 0.2 mg/kg IV					
	Assay: LSC and 8326664					
	SC (0.4 mg/kg)			IV (0.2 mg/kg)		
Composite PK parameters	Radioactivity in Blood	Radioactivity in Plasma	Treprostinil in Plasma	Radioactivity in Blood	Radioactivity in Plasma	Treprostinil in Plasma
C_{max} or C_0 (ng eq/g or ng/mL)	243	476	436	349	637	1180
$AUC_{(0-t)}$ (ng eq•h/g or ng•h/mL)	481	828	313	204	392	150
$AUC_{(0-\infty)}$ (ng eq•h/g or ng•h/mL)	530	857	314	213	401	150
t_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	NA	NA	NA
Cl (mL/min/kg)	NA	NA	NA	938	498	1330
V_d (mL/kg)	NA	NA	NA	3980	2670	473
$t_{1/2}$ (h)	47.1	30.8	1.27	8.61	14.6	2.09

Abbreviations: AUC = area under the plasma or blood concentration-time curve; Cl = clearance; C_{max} = maximum observed plasma or blood concentration; eq = equivalents; LSC = liquid scintillation counting; NA = not applicable; PK = pharmacokinetic; $t_{1/2}$ = half life; t_{max} = time to C_{max}; V_d = volume of distribution.

2.6.5.3B Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations)

Study Title: In Vivo Effects of Citrate, Treprostinil, and Citrate + Treprostinil on Glucodynamics and Pharmacokinetics of Insulin Lispro (LY275585) in Diabetic Male Yucatan Miniature Swine (Pig Study 084)				
Sample: Serum			Document ID: DBT231	
Analyte: Insulin lispro			Location in CTD: 4.2.1.1.4	
Species / Strain / Sex: Swine / Yucatan miniature / Male	Vehicle / Formulation: Humalog, insulin lispro + [redacted]µg/mL treprostinil (084A), insulin lispro + [redacted]mM citrate (084B), insulin lispro + [redacted]µg/mL treprostinil + [redacted]mM citrate (084C)			
Number of animals: 18-20/group	Route: Subcutaneous			
Feeding condition: Fasted	Dose: 0.2 U/kg insulin lispro		Assay: radioimmunoassay	
	Mean (SEM)			
PK Parameters	Insulin lispro (Humalog)	084A	084B	084C
C_{max} (pmol/L)	980 (171)	1250 (280) NS[a], NS[b]	1300 (240) NS[a]	1600 (460) p = 0.021[a], NS[b], NS[c]
$AUC_{0-\infty}$ (pmol·h/L)	2583 (383)	2533 (400) NS[a], NS[b]	2400 (333) NS[a]	2667 (533) NS[a], NS[b], NS[c]
Cl/F (L/h)	27.8 (3.0)	28.6 (3.0) NS[a], NS[b]	28.6 (3.0) NS[a]	29.2 (3.2) NS[a], NS[b], NS[c]
t_{max} (minute)	71.3 (7.3)	74.2 (7.6) NS[a], p = 0.0879[b]	55.5 (7.8) NS[a]	42.1 (6.6) p = 0.0048[a], NS[b], p = 0.0013[c]
Early 50% t_{max} (minute)	29.6 (4.1)	24.1 (3.8) NS[a], p = 0.0192[b]	16.5 (4.9) p = 0.0009[a]	15.9 (3.9) p = 0.0019[a], NS[b], p = 0.0336[c]
Late 50% t_{max} (minute)	175 (14)	146 (12) NS[a], NS[b]	130 (12) NS[a]	98.5 (13.4) p < 0.0001[a], p = 0.0549[b], p = 0.0045[c]

Abbreviations: AUC = area under the serum concentration-time curve; Cl/F = apparent clearance; C_{max} = maximum observed serum concentration; Early 50% t_{max} = time to early half C_{max}; Late 50% t_{max} = time to half maximum observed drug concentration after t_{max}; NS = not significant; PK = pharmacokinetic; SEM = standard error of the mean; t_{max} = time to C_{max}.

[a] Comparison with Humalog.

[b] Comparison with 084B.

[c] Comparison with 084A.

Note: Statistical comparisons to the Humalog control group were made using a mixed effects ANOVA with fixed effects of formulation and period and random animal effect, and the log of PK parameters were taken to stabilize the variance.

2.6.5.3C Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations)

Study Title: In Vivo Effects of Varying Citrate Concentration Plus Fixed Treprostinil Concentration on Glucodynamics and Pharmacokinetics of Insulin Lispro (LY275585) in Diabetic Male Yucatan Miniature Swine (Pig Study 107)				
Sample: Serum				Document ID: DBT232
Analyte: Insulin lispro				Location in CTD: 4.2.1.1.5
Species / Strain / Sex: Swine / Yucatan miniature / Male	Vehicle / Formulation: Humalog, insulin lispro +[redacted]mM citrate (107B), insulin lispro +[redacted]µg/mL treprostinil (107C), insulin lispro +[redacted]µg/mL treprostinil +[redacted]mM citrate (107E)			
Number of animals: 15-19/group	Route: Subcutaneous			
Feeding condition: Fasted	Dose: 0.2 U/kg insulin lispro			
	Assay: radioimmunoassay			
	Mean (SEM)			
PK Parameters	Insulin lispro (Humalog)	107B	107C	107E
C_{max} (pmol/L)	939 (327)	935 (338) NS[a]	1800 (460) NS[a], NS[b]	1540 (430) NS[a], NS[b], NS[c]
$AUC_{0-\infty}$ (pmol·h/L)	2167 (483)	2450 (767) NS[a]	2617 (433) NS[a], NS[b]	2533(517) NS[a], NS[b], NS[c]
Cl/F (L/h)	31.7 (3.4)	32.3 (3.6) NS[a]	25.6 (2.5) NS[a], NS[b]	28.1 (2.8) NS[a], NS[b], NS[c]
t_{max} (minute)	69.7 (12.5)	53.8 (10.3) NS[a]	54.2 (7.3) NS[a], NS[b]	39.5 (5.0) p = 0.0767[a], NS[b], NS[c]
Early 50% t_{max} (minute)	17.8 (4.1)	6.46 (0.55) p = 0.0048[a]	23.1 (4.8) NS[a], p = 0.0004[b]	9.85 (1.77) p = 0.0727[a], NS[b], p = 0.0106[c]
Late 50% t_{max} (minute)	168 (20)	15 (15) NS[a]	110 (11) p = 0.0777[a], NS[b]	109 (11) p = 0.0568[a], NS[b], NS[c]

Abbreviations: AUC = area under the serum concentration-time curve; Cl/F = apparent clearance; C_{max} = maximum observed serum concentration; Early 50% t_{max} = time to early half C_{max}; Late 50% t_{max} = time to half maximum observed drug concentration after t_{max}; NS = not significant (p>0.1); PK = pharmacokinetic; SEM = standard error of the mean; t_{max} = time to C_{max}.

[a] Comparison with Humalog.

[b] Comparison with 107B.

[c] Comparison with 107C.

Note: Statistical comparisons to the Humalog control group were made using a mixed effects ANOVA with fixed effects of formulation and period and random animal effect, and the log of PK parameters were taken to stabilize the variance.

2.6.5.3D Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in Various Formulations)

Study Title: In Vivo Effects of Fixed Citrate Concentration Plus Varying Treprostinil Concentration on Glucodynamics and Pharmacokinetics of Insulin Lispro (LY275585) in Diabetic Male Yucatan Miniature Swine (Pig Study 113)						
Sample: Serum					Document ID: DBT233	
Analyte: Insulin lispro					Location in CTD: 4.2.1.1.6	
Species / Strain / Sex: Swine / Yucatan miniature / Male	Vehicle / Formulation: Humalog, insulin lispro + [redacted] mM citrate (113A), insulin lispro + [redacted] µg/mL treprostinil (113B), insulin lispro + [redacted] µg/mL treprostinil + [redacted] mM citrate (113C) , insulin lispro + [redacted] µg/mL treprostinil + [redacted] mM citrate (113D) , insulin lispro + [redacted] µg/mL treprostinil + [redacted] mM citrate (113E)					
Number of animals: 15-17/group	Route: Subcutaneous					
Feeding condition: Fasted	Dose: 0.2 U/kg insulin lispro					
	Assay: radioimmunoassay					
	Mean (SEM)					
PK Parameters	Insulin lispro (Humalog)	113A	113B	113C	113D	113E
C_{max} (pmol/L)	1040 (380)	1150 (370)	821 (292)	740 (127)	993 (215)	870 (186)
$AUC_{0-\infty}$ (pmol·h/L)	2000 (267)	2033 (183)	1733 (317)	1717 (200)	1867 (150)	1833 (217)
Cl/F (L/h)	30.4 (2.8)	28.9 (2.8)	38.4 (4.1)	36.4 (4.4)	30.7 (3.1)	32.5 (3.1)
t_{max} (minute)	60.0 (7.6)	57.1 (9.5)	55.3 (5.3)	55.0 (6.2)	50.0 (7.2)	52.5 (7.4)
Early 50% t_{max} (minute)	22.9 (5.8)	16.0 (3.5)	13.7 (1.5)	15.8 (2.2)	13.2 (2.1)	11.7 (1.5)
Late 50% t_{max} (minute)	152 (17)	144 (16)	139 (9)	136 (10)	121 (10)	139 (18)

Abbreviations: AUC = area under the serum concentration-time curve; Cl/F = apparent clearance; C_{max} = maximum observed serum concentration; Early 50% t_{max} = time to early half C_{max}; Late 50% t_{max} = time to half maximum observed drug concentration after t_{max}; PK = pharmacokinetic; SEM = standard error of the mean; t_{max} = time to C_{max}.

Note: Statistical comparisons to the Humalog control group were made using a mixed effects ANOVA with fixed effects of formulation and period and random animal effect, and the log of PK parameters were taken to stabilize the variance. No comparisons were statistically significant ($p<0.1$).

2.6.5.3E Absorption after a Single Dose in Miniature Swine (Insulin Lispro in LY900014)

Study Title: In Vivo Glucodynamics and Insulin Lispro (LY275585) Pharmacokinetics in Diabetic Male Yucatan Miniature Swine Dosed with LY900014 (Pig Study 133)		
Sample: Serum		Document ID: DBT253
Analyte: Insulin lispro		Location in CTD: 4.2.1.1.7
Species / Strain / Sex: Swine / Yucatan miniature / Male	Vehicle / Formulation: Humalog, insulin lispro + [redacted]mM citrate + [redacted]µg/mL treprostinil (LY900014)	
Number of animals: 15-18/group	Route: Subcutaneous	
Feeding condition: Fasted	Dose: 0.2 U/kg insulin lispro	
	Assay: radioimmunoassay	

	Mean (SEM)	
PK Parameters	Insulin lispro (Humalog)	LY900014[a]
C_{max} (pmol/L)	525 (54)	1090 (240) p≤0.001
$AUC_{0-\infty}$ (pmol·h/L)	1700 (233)	2550 (400) p≤0.001
Cl/F (L/h)	42.6 (4.7)	30.0 (3.2) NS[a]
t_{max} (minute)	92.5 (9)	54.7 (6.7) p=0.0049
Early 50% t_{max} (minute)	29.7 (3.7)	12.9 (1.9) p=0.0002
Late 50% t_{max} (minute)	169 (16)	129 (11) p=0.011

Abbreviations: AUC = area under the serum concentration-time curve; Cl/F = apparent clearance; C_{max} = maximum observed serum concentration; Early 50% t_{max} = time to early half C_{max}; Late 50% t_{max} = time to half maximum observed drug concentration after t_{max}; PK = pharmacokinetic; SEM = standard error of the mean; t_{max} = time to C_{max}.

[a] Comparison with Humalog.

2.6.5.4 Absorption after Repeated Doses of Treprostinil

See the Toxicology Tabulated Summary, Module 2.6.7.

2.6.5.5 Organ Distribution

2.6.5.5A Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Pigmented (Long Evans) Rats

Study Title: Pharmacokinetics, Bioavailability, Distribution, Metabolism, and Elimination of [^{14}C] Treprostinil in Male Sprague Dawley and Male Long Evans Rats Following a Single 0.4 mg/kg Subcutaneous Dose or 0.2 mg/kg Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil		
Species/Strain: Rat / Long Evans	Radionuclide: ^{14}C	Document ID: 8329342
Sex/Number of animals: Male / 1/time point	Specific activity: 150 µCi/mg	Location in CTD: 4.2.2.2.1
Fed/Fasted: Fasted	Sampling time: 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 336, 504, and 672 hours	
Vehicle / Formulation: 15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution	Dose: 0.4 mg/kg	
Route: Subcutaneous	Assay / Method: QWBA	

	Pharmacokinetic Parameters		
	$AUC_{(0-t)}$	C_{max}	t_{max}
Matrix	(ng eq•h/g)	(ng eq/g)	(h)
Adrenal gland(s)	233	68.4	0.5
Blood	265	164	0.5
Bone marrow	76.9	42.5	0.5
Brain olfactory lobe	1.78	7.13	1
Bulbo-urethral gland	68.8	57.5	0.5
Cecum	3850	370	8
Diaphragm	174	68.6	0.5
Dose site	43400	26700	0.5
Epididymis	35.6	23.3	1
Esophagus	212	81.6	0.5
Exorbital lacrimal gland	56.8	28.2	0.5
Eye uveal tract	50.3	29.0	0.5
Eye(s)	1.79	7.14	0.5
Fat (abdominal)	1.89	7.56	1
Fat (brown)	50.8	40.6	0.5
Harderian gland	111	24.2	1
Intra-orbital lacrimal gland	52.7	29.4	0.5
Kidney cortex	3520	2470	0.5
Kidney medulla	2400	1490	1
Kidney(s)	2910	1290	0.5

(continued)

2.6.5.5A Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Pigmented (Long Evans) Rats (concluded)

	Pharmacokinetic Parameters		
	$AUC_{(0-t)}$	C_{max}	t_{max}
Matrix	(ng eq•h/g)	(ng eq/g)	(h)
Large intestine	61.1	41.2	0.5
Liver	12500	3130	0.5
Lung(s)	195	129	0.5
Lymph node(s)	64.4	52.3	1
Muscle	9.83	15.0	0.5
Myocardium	66.1	64.6	0.5
Nasal turbinates	40.7	33.4	0.5
Pancreas	96.5	56.4	0.5
Pituitary gland	43.1	37.8	0.5
Plasma	488	293	0.5
Preputial gland	9.84	14.8	0.5
Prostate gland	24.0	17.7	0.5
Salivary gland(s)	89.3	44.1	0.5
Seminal vesicle(s)	17.4	14.4	2
Skin (nonpigmented)	46.7	32.7	1
Skin (pigmented)	61.1	46.9	1
Small intestine	653	130	2
Spleen	38.3	36.3	0.5
Stomach	120	51.2	1
Testis(es)	13.9	9.17	1
Thymus	32.4	28.5	0.5
Thyroid	67.9	41.5	0.5
Urinary bladder	134	63.9	1

Abbreviations: AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration; eq = equivalents [^{14}C]treprostinil; QWBA = quantitative whole-body autoradiography; t_{max} = time to reach C_{max}.

2.6.5.5B Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Non-Pigmented (Sprague Dawley) Rats

Study Title: Pharmacokinetics, Bioavailability, Distribution, Metabolism, and Elimination of [^{14}C] Treprostinil in Male Sprague Dawley and Male Long Evans Rats Following a Single 0.4 mg/kg Subcutaneous Dose or 0.2 mg/kg Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil		
Species/Strain: Rat / Sprague Dawley	Radionuclide: ^{14}C	Document ID: 8329342
Sex/Number of animals: Male / 1/time point	Specific activity: 150 μCi/mg	Location in CTD: 4.2.2.2.1
Fed/Fasted: Fasted	Sampling time: 1, 2, 4, 8, 24, and 72 hours	
Vehicle / Formulation: 15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution	Dose: 0.4 mg/kg	
Route: Subcutaneous	Assay / Method: QWBA	

	Pharmacokinetic Parameters		
	$AUC_{(0-t)}$	C_{max}	t_{max}
Matrix	(ng eq•h/g)	(ng eq/g)	(h)
Adrenal gland(s)	75.0	39.3	1
Blood	275	107	1
Bone marrow	120	32.2	1
Bulbo-urethral gland	41.4	33.7	1
Cecum	1740	846	8
Diaphragm	191	73.1	1
Dose site	17300	12100	1
Epididymis	18.6	14.1	1
Esophagus	166	39.8	1
Exorbital lacrimal gland	51.3	18.9	1
Eye uveal tract	17.5	11.8	1
Fat (abdominal)	3.41	6.82	1
Fat (brown)	206	148	1
Harderian gland	82.0	13.5	2
Intra-orbital lacrimal gland	44.3	16.2	2
Kidney cortex	2370	758	1
Kidney medulla	1980	888	1
Kidney(s)	2380	827	1
Large intestine	333	31.1	1
Liver	10500	2960	1
Lung(s)	264	160	1

(continued)

2.6.5.5B Distribution after a Single Dose of Treprostinil to Non-Pigmented (Sprague Dawley) Rats (concluded)

	Pharmacokinetic Parameters		
	$AUC_{(0-t)}$	C_{max}	t_{max}
Matrix	(ng eq•h/g)	(ng eq/g)	(h)
Lymph node(s)	45.8	36.5	1
Muscle	4.06	8.11	1
Myocardium	68.5	40.1	1
Nasal turbinates	21.8	18.0	1
Pancreas	105	38.9	1
Pituitary gland	35.0	28.2	1
Plasma	448	204	1
Preputial gland	5.00	10.0	1
Prostate gland	46.8	16.0	1
Salivary gland(s)	110	28.3	1
Skin (nonpigmented)	43.0	34.0	1
Small intestine	821	206	4
Spleen	50.7	17.8	1
Stomach	98.7	28.5	1
Thymus	21.6	16.3	1
Thyroid	31.5	27.5	1
Urinary bladder	228	66.3	2

Abbreviations: AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum observed concentration; eq = equivalents [^{14}C]treprostinil; QWBA = quantitative whole-body autoradiography; t_{max} = time to reach C_{max}.

2.6.5.6 Plasma Protein Binding (Not Applicable)

2.6.5.7 Placental Transfer in Species (Not Applicable)

2.6.5.8 Other Distribution Studies (Not Applicable)

2.6.5.9 Metabolism In Vivo

2.6.5.9A In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): Identified Metabolites

Study Title		Metabolite Profiling and Identification in Selected Rat Plasma, Urine, Bile, and Feces Samples after a Single Subcutaneous or Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil from Covance Study No. 8329342				
Species		Rat				
Feeding Condition		Fasted				
Vehicle/Formulation		15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution				
Route		Subcutaneous				
Radionuclide		^{14}C				
Specific Activity		150 μCi/mg				
Document ID (Location in CTD)		8329343 (4.2.2.4.1)				
Dose (mg/kg)		0.4 mg/kg				
Matrix		Plasma	Urine	Bile	Feces	
Sample Time (hour)		0.25 to 24 (AUC Pool)	0- 12	0-6	0- 24	24-48
Peak	Metabolite					
P	Treprostinil	X		X	X	X
U1	Undetermined	X				
U2	Undetermined				X	X
U3	Undetermined				X	
U4	Undetermined				X	X
M1	Parent – C_5H_{12} + O	X	X	X	X	X
M2	Parent – C_2H_6 + 2O	X	X	X	X	X
M3	Parent – C_2H_8 + 2O	X	X	X	X	X
M5	Parent + O	X		X[a]	X	
M8	Parent + O – 2H			X	X	X
M10	M18 + glucuronide			X		
M11	Parent + glucuronide			X		
M12	Parent + O – 2H	X		X	X	X
M14	Parent + O	X		X	X	X
M15	Parent + O – 2H	X		X	X	X
M17	Isomer of Parent			X	X	X
M18	Parent – 2H	X		X	X	X

(continued)

2.6.5.9A In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): Identified Metabolites (concluded)

Matrix		Plasma	Urine	Bile	Feces	
Sample Time (hour)		0.25 to 24 (AUC Pool)	0- 12	0-6	0- 24	24-48
Peak	Metabolite					
M19	Parent – 4H	X		X		
M20	Taurine conjugate of M2 - 2H			X		
M21	Taurine conjugate of M2 - 2H			X		
M22	Parent + 2O – 2H			X[b]	X	X
M24	Parent + 2O – 4H	X		X	X	X
M25	Parent + 2O			X	X	X
M26	Parent – 4H	X		X	X	
M27	Parent + 2O – 2H	X			X	X
M28	Taurine conjugate of M2 – O - 2H			X		

[a] M5/M6.

[b] M22/M23.

2.6.5.9B In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): Percent of Dose for Treprostinil and Metabolites in Bile, Urine, and Feces

Study Title		Metabolite Profiling and Identification in Selected Rat Plasma, Urine, Bile, and Feces Samples after a Single Subcutaneous or Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil from Covance Study No. 8329342		
Species		Rat, BDC		
Feeding Condition		Fasted		
Vehicle/Formulation		15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution		
Route		Subcutaneous		
Radionuclide		^{14}C		
Specific Activity		150 µCi/mg		
Document ID (Location in CTD)		8329343 (4.2.2.4.1)		
Dose (mg/kg)		0.4 mg/kg		
		Mean % of dose excreted		
Matrix		Urine	Bile	Feces
Sample Time (hour)		0-12	0- 6	0- 24
Peak	Metabolite			
P	Treprostinil		1.09	0.0310
M1	Parent – C_5H_{12} + O	0.952	0.429	0.0310
M2	Parent – C_2H_6 + 2O	1.22	1.84	
M3	Parent – C_2H_8 + 2O	1.20	8.43	0.204
M5/M6	Parent + O/Parent + glucuronide		0.548	
M8	Parent + O – 2H		2.08	
M10	M18 + glucuronide		11.5	
M11	Parent + glucuronide		1.80	
M12	Parent + O – 2H		3.20	
M14	Parent + O		0.840	
M15	Parent + O – 2H		5.00	0.0402
M17	Isomer of Parent		4.69	0.0773
M18	Parent – 2H		17.4	0.111
M19	Parent – 4H		0.411	
M20	Taurine conjugate of M2 - 2H		4.39	
M21	Taurine conjugate of M2 - 2H		6.67	

(continued)

2.6.5.9B In Vivo Rat Metabolism (Treprostinil): % of Dose for Treprostinil and Metabolites in Bile, Urine, and Feces (concluded)

Matrix		Urine	Bile	Feces
Sample Time (hour)		0-12	0- 6	0- 24
Peak	Metabolite			
M22/M23	Parent + 2O – 2H/M2 Taurine conjugate – 2H		3.80	
221M24	Parent + 2O – 4H		3.70	0.108
M25	Parent + 2O		1.31	
M26	Parent – 4H		0.210	
M28	Taurine conjugate of M2 – O - 2H		1.47	

Abbreviations: BDC = bile-duct cannulated.

2.6.5.10 Metabolism In Vitro

2.6.5.10A Metabolism In Vitro (Treprostinil)

Study Title: Identification of Metabolites of [^{14}C] Treprostinil Generated from In Vitro Rat and Human Hepatocyte Incubations					Document ID: 8333362
Analyte: Treprostinil					Location in CTD: 4.2.2.4.2
		% of Treprostinil Present in Hepatocytes			
		Rat		Human	
Metabolite	*m/z*	0 min	240 min	0 min	240 min
[^{14}C]-Treprostinil	391	82.91	8.67	83.01	33.29
M1	335	0.13	0.30	0.15	1.43
M2	393	ND	0.29	ND	8.62
M3	391	ND	0.88	ND	1.69
M4	379	ND	ND	ND	2.15
M5/M6	407/567	0.33[a]	0.85	0.33[a]	4.88
M7	405	0.18	0.48	0.14	15.91
M8	405	ND	0.99	ND	ND
M9	403	ND	0.46	ND	1.88
M10	565	ND	3.73	ND	0.91
M11	567	ND	1.01	ND	1.07
M12	405	ND	1.80	0.12	ND
M13	407	0.68	1.24[b]	0.51	0.66
M15	405	ND	3.16	ND	ND
M16	407	1.94	0.85	1.98	1.32
M17	391	ND	9.90	ND	ND
M18	389	1.34	48.76	1.36	9.46
M19	387	ND	1.24	ND	ND
M20	498	ND	0.09	ND	ND
M21	498	ND	0.45	ND	ND
M22/M23	421/498	ND	0.17	ND	ND
M24	419	ND	0.73	ND	ND

(continued)

2.6.5.10A Metabolism In Vitro (Treprostinil) (concluded)

		% of Treprostinil Present in Hepatocytes			
		Rat		Human	
Metabolite	*m/z*	0 min	240 min	0 min	240 min
M25	421	ND	0.62	ND	ND
M26	387	ND	0.29	ND	ND
U1	NA	4.48	4.97	4.36	4.61

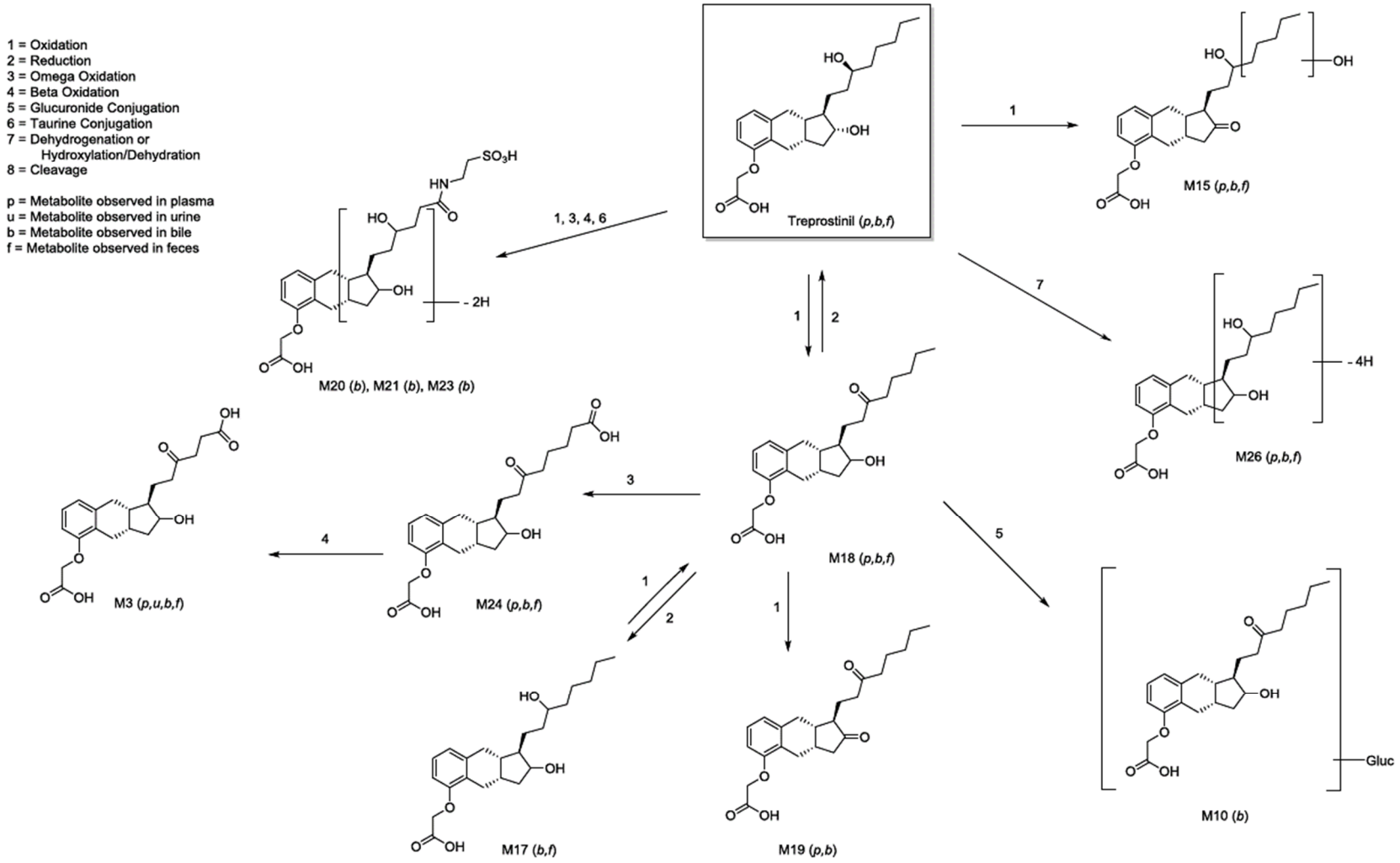
Abbreviations: NA = not able to be determined; ND = not detected above the limit of quantitation.

[a] M5 only.

[b] M13/M14.

2.6.5.11 Proposed Metabolic Pathways

2.6.5.11A Proposed In Vivo Metabolic Pathways in Rats (Treprostinil)



2.6.5.12 Induction/Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes (Not Applicable)

2.6.5.13 Excretion

2.6.5.13A Excretion in Intact Rats and Bile-Duct Cannulated Rats (Treprostinil)

Study Title: Pharmacokinetics, Bioavailability, Distribution, Metabolism, and Elimination of [^{14}C] Treprostinil in Male Sprague Dawley and Male Long Evans Rats Following a Single 0.4 mg/kg Subcutaneous Dose or 0.2 mg/kg Intravenous Dose of [^{14}C] Treprostinil										
Sample: Excreta					Dosing Duration: single dose				Document ID: 8329342 Location in CTD: 4.2.2.2.1	
Analyte: ^{14}C					Sample collection: 0-6, 0-12, 0-24, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, and 144-168 hours depending on matrix and type of rat					
Species / Strain / Sex: Rat / Sprague Dawley/ Male					Vehicle / Formulation: 15 mM citrate, 5 mM MgCl in phosphate buffer, pH 7.4 / Solution					
Number of animals: 4/group					Doses: 0.4 mg/kg					
Feeding condition: Fasted					Specific activity: 150 µCi/mg					
Route: Subcutaneous					Assay: LSC					
	Mean (SD) % Dose, Intact rat					Mean (SD) % Dose, BDC rat				
Excretion Route:	Urine	Feces	Other[a]	Total	Excretion Route:	Urine	Feces	Bile	Other[b]	Total
Time					Time					
0 to 12 h	4.30	NA	NA	4.30	0 to 6 h	NA	NA	91.3	NA	91.3
(SD)	(1.17)	(NA)	(NA)	(1.17)	(SD)	(NA)	(NA)	(3.4)	(NA)	(3.4)
12-24/0-24 h[c]	0.41	85.4	0.15	85.9	6-12/0-12 h[d]	5.55	NA	0.96	NA	6.51
(SD)	(0.06)	(3.3)	(0.05)	(3.3)	(SD)	(2.33)	(NA)	(0.32)	(NA)	(2.58)
24-48 h	0.08	5.45	0.04	5.58	12-24/0-24h[e]	0.23	0.79	0.20	0.13	1.35
(SD)	(0.05)	(2.98)	(0.03)	(3.06)	(SD)	(0.16)	(1.10)	(0.04)	(0.04)	(1.09)
48-72 h	0.03	0.43	0.01	0.47	24-48 h	0.05	0.17	0.09	0.03	0.35
(SD)	(0.01)	(0.31)	(0.01)	(0.33)	(SD)	(0.04)	(0.17)	(0.04)	(0.02)	(0.16)
72-96 h	0.01	0.10	0.00	0.12	48-72 h	0.04	0.04	0.02	0.68	0.79
(SD)	(0.00)	(0.04)	(0.01)	(0.05)	(SD)	(0.04)	(0.02)	(0.04)	(0.10)	(0.15)
96-120 h	0.01	0.04	0.01	0.06	Subtotal	5.88	1.00	92.6	0.84	100
(SD)	(0.00)	(0.03)	(0.01)	(0.03)	(SD)	(2.35)	(1.28)	(3.3)	(0.13)	(1)
120-144 h	0.01	0.02	0.00	0.02						
(SD)	(0.00)	(0.02)	(0.00)	(0.02)						
144-168 h	0.00	0.00	0.44	0.44						
(SD)	(0.00)	(0.00)	(0.11)	(0.11)						
Subtotal	4.86	91.4	0.65	96.9						
(SD)	(1.16)	(0.7)	(0.13)	(1.2)						

(continued)

2.6.5.13A Excretion in Intact Rats and Bile-Duct Cannulated Rats (Treprostinil) (concluded)

Abbreviations: BDC = bile-duct cannulated; LSC = liquid scintillation counting; NA = not applicable; SD = standard deviation.

[a] Cage rinse, cage wash, cage wipe, and residual carcass.

[b] Cage rinse, cage wash, cage wipe, bile cannula, jacket rinse, and residual carcass.

[c] For urine and total, the collection interval is 12-24 hours. For feces and other, the collection interval is 0-24 hours.

[d] For urine, the collection interval is 0-12 hours. For bile and total, the collection interval is 6-12 hours.

[e] For urine, bile and total, the collection interval is 12-24 hours. For feces and other, the collection interval is 0-24 hours.

2.6.5.14 Drug-Drug Interactions (Not Applicable)