2.6.4 薬物動態試験の概要文

目次

2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 6
2.6.4.3 吸収 7
2.6.4.3.1 雌性ラット単回静脈内投与後の薬物動態［添付資料 4.2.2.2-1］ 7
2.6.4.3.2 ラット14日間反復皮下投与による用量設定試験［添付資料 4.2.3.2-1］ 8
2.6.4.3.3 ラット4週間反復皮下投与毒性試験［添付資料 4.2.3.2-2］ 10
2.6.4.3.4 カニクイザル皮下投与最大耐用量試験［添付資料4.2.3.2-3］ 10
2.6.4.3.5 カニクイザル4週間反復皮下投与毒性試験［添付資料4.2.3.2-4］ 12
2.6.4.4 分布 16
2.6.4.5 代謝 17
2.6.4.6 排泄 17
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 17
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 17
2.6.4.8.1 ラットにアシアロフェチンと同時静脈内投与されたFE 999049及びゴナールエフの血清中濃度推移の比較［添付資料4.2.2.7-1］ 17
2.6.4.8.2 アシアロ糖タンパク質受容体ノックアウトマウスモデルでのFE 999049及びゴナールエフの薬物動態比較［添付資料4.2.2.7-2］ 18
2.6.4.9 考察及び結論 19
2.6.4.9.1 薬物動態／トキシコキネティクス 19
2.6.4.9.2 消失 20
2.6.4.9.3 糖鎖修飾の影響 20
2.6.4.10 図表 21
2.6.4.11 参考文献 22

表の目次

表 2.6.4- 1 異なる動物種における組換え FSH の半減期の比較 5
表 2.6.4- 2 TK パラメータが算出された試験 7
表 2.6.4- 3 成熟雌ラットに FE 999049 を静脈内投与したときの PK パラメータ 8
表 2.6.4- 4 ラット 14 日間皮下投与毒性試験（用量設定試験）：Day 1 における rFSH の平均血清中濃度（ng/mL）及び平均 TK パラメータ（未補正データセット） 9
表 2.6.4- 5 ラット 14 日間皮下投与毒性試験（用量設定試験）：Day 14 における rFSH の平均血清中濃度（ng/mL）及び平均 TK パラメータ 10
表 2.6.4- 6 カニクイザル MTD 試験：漸増相における FE 999049 の TK パラメータ 11
表 2.6.4- 7 カニクイザル MTD 試験：漸増相における $AUC_{0\text{-}24}$ と C_{max} の増加 12
表 2.6.4- 8 カニクイザル MTD 試験：固定用量相における FE 999049 の TK パラメータ 12
表 2.6.4- 9 カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：0.522 µg/kg/day 13

表 2.6.4- 10　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：5.22 µg/kg/day 14
表 2.6.4- 11　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：52.2 µg/kg/day 15
表 2.6.4- 12　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：Day 1 における用量相関性 15
表 2.6.4- 13　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：Day 28 における用量相関性 15
表 2.6.4- 14　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：抗 FE 999049 抗体生成, ベースラインからの変化 16
表 2.6.4- 15　野生型マウスにおける FE 999049 及びゴナールエフの AUC と%AUC 18
表 2.6.4- 16　ASGP 受容体ノックアウトマウスにおける FE 999049 及びゴナールエフの AUC と%AUC.....18

図の目次

図 2.6.4- 1　FE 999049（A）及びゴナールエフ（B）を静脈内投与したときの血清中濃度推移（ASF 併用あるいは非併用） 17

略号一覧

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ASF	asialofetuin	アシアロフェチン
ASGP	asialoglycoprotein	アシアログリコプロテイン
AUC	area under the Curve	血清中濃度時間曲線下面積
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum serum concentration	最高血清中濃度
CV%	coefficient of variation	変動係数
EC_{50}	50% effective dose	50%有効性濃度
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FSH	follicle-stimulating hormone	卵胞刺激ホルモン
GalNac	N-acetylgalactosamine	N-アセチルガラクトサミン
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
PK	pharmacokinetic	薬物動態
QC	quality control	精度管理
rFSH	recombinant human FSH	遺伝子組換えヒト卵巣刺激ホルモン
SD	standard deviation	標準偏差
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time of the maximum concentration	最高血清中濃度到達時間
ULOQ	upper limit of quantification	定量上限
V	volume of distribution	分布容積

2.6.4.1　　まとめ

FE 999049 はヒト由来の細胞株（ヒト胚性網膜芽細胞）で発現させた遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン（rFSH）である。FE 999049 は女性を対象とした「生殖補助医療における調節卵巣刺激」を効能・効果としてフェリング・ファーマ株式会社により開発されている。薬物動態（PK）試験の概要を［2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表］に示す。FE 999049 の吸収は、静脈内投与後のラットの PK 試験及び皮下投与後のラットとカニクイザルのトキシコキネティクス（TK）試験で評価した。ラットにおける消失半減期（$t_{1/2}$）は 6.3～9.7 時間、カニクイザルの $t_{1/2}$ は雄 14.8～29.2 時間、雌 21.4～47.6 時間であった。ラットでは 14 日間の反復投与後に FE 999049 の蓄積性はないか、あってもほんのわずかであった。一方、カニクイザルでは多くの動物で著しい蓄積性を示した。これはカニクイザルの $t_{1/2}$ がラットに比べて 2～8 倍長いことと同じ傾向であった。曝露は用量比以上に増加する傾向が見られ、この傾向はカニクイザルよりもラットにおいて顕著であり、最高用量でより顕著であった。性差は見られなかった。表 2.6.4- 1 に示すように、ラットとカニクイザルにおける FE 999049 の TK はチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞由来の rFSH とおおむね同様であった。

表 2.6.4- 1　　異なる動物種における組換え FSH の半減期の比較

Source	Drug substance origin	Dose	Route of administration	Species	$t_{1/2}$ (hours)
［Porchet 1993］ (13)	Serono	10 IU/kg	SC	Monkey	20.7
	Serono	10 IU/kg	IV	Monkey	15.3
［de Leeuw 1996］ (13)	Organon	20 IU/kg	IM	Dog	21.4
	Organon	50 IU/kg	IV	Rat	5.7
	Organon	50 IU/kg	IM	Rat	11.4
［添付資料 4.2.2.2-1］	FE 999049 Ferring	10 µg/kg	IV	Rat	9.4
［添付資料 4.2.3.2-1］	FE 999049 Ferring	1.45-145 µg/kg	SC (dose range)	Rat	6.3-9.7
［添付資料 4.2.3.2-3］	FE 999049 Ferring	36.3-290 µg/kg	SC (dose escalation)	Monkey	20.3-43.7
［添付資料 4.2.3.2-3］	FE 999049 Ferring	290 µg/kg	SC (fixed dose)	Monkey	21.4-21.6
［添付資料 4.2.3.2-4］	FE 999049 Ferring	0.522-52.2 µg/kg	SC (chronic 28 days)	Monkey	14.8-47.6

反復投与毒性試験で抗薬物抗体（ADA）を測定すると、カニクイザルでは一部の動物で ADA の著しい生成が見られた。同じ測定系ではラットの ADA は検出されなかったが、両種共に薬物動態は ADA の影響を大きく受けたと考えられた。

低分子の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は、rFSH には必要ないと判断した。FSH の生体内変化はよく知られており、文献で報告されているため、組織分布試験、血漿タンパク結合試験、排泄、及び代謝に関する試験は実施しなかった。

CHO 細胞由来 rFSH（ゴナールエフ）とヒト細胞（ヒト胚性網膜芽細胞）由来 rFSH（FE 999049）の生体内変化の相違を調べるために、2 つの比較試験をその他の薬物動態試験として実施した。まず、アシアログリコプロテイン（ASGP）受容体ノックアウトマウスと野生型マウスでの FE 999049 とゴナールエフの薬物動態を比較した。野生型マウスでは同一用量を投与した後の血清中濃度推移は両化合物間で違いはなかったが、ノックアウトマウスでは FE 999049 の曝露がより高かった。次に、雄性 Sprague Dawley 系ラットに大量の ASGP を併用投与し ASGP 受容体に対する競合を調べた。FE 999049 を静脈内投与後の曝露は ASGP の併用投与により増加したが、ゴナールエフでは変化は認められなかった。これらの結果は、rFSH のげっ歯類での代謝的消失が、rFSH の由来細胞によって異なることを示している。

2.6.4.2　分析法

ラット血清中 rFSH 濃度はバリデート済みの Alpco Diagnostics USA 社製酵素免疫測定法（ELISA）キットを用いて測定した（雌性ラット単回静脈内投与 PK 試験 2.6.4.3.1 は除く）。定量下限（LLOQ）は 13.8 mIU/mL、定量上限（ULOQ）は 460 mIU/mL であった。測定内及び測定間精度（変動係数）はそれぞれ 7.5%及び 13.5%以下、測定間真度は理論値の±10.7%、平均の回収率は 96.8%であった。重量単位表示の定量範囲は 1.00～33.4 又は 0.72～24.0 ng/mL であった。これは、分析法バリデーションとその後の試験で比活性の異なる 2 つのロットの rFSH 標準品を使用したためである。全てのラットの試験における精度管理（QC）試料の測定値は許容基準の範囲内であった（精度 20%以下、真度±20%以内）［添付資料 4.2.2.1-1］。

雌性ラット単回静脈内投与 PK 試験 2.6.4.3.1 のラット血清中 rFSH は、DRG International Inc. USA 社製の市販の ELISA キットを用いて測定した。検出限界は 1 mIU/mL であった。

カニクイザル血清中 rFSH はバリデート済みの Alpco Diagnostics USA 社製 ELISA キットを用いて測定した。LLOQ は 13.8 mIU/mL、ULOQ は 460 mIU/mL であった。測定内及び測定間精度（変動係数）はそれぞれ 9.8%及び 9.5%以下、測定間真度は理論値の±8.2%、平均の回収率は 75.4%であった。重量単位表示の定量範囲は 1.00～33.4 又は 0.72～24.0 ng/mL であった。これは、分析法バリデーションとその後の試験で比活性の異なる 2 つのロットの rFSH 標準品を使用したためである。全てのカニクイザルの試験の QC 試料の測定値は許容基準の範囲内であった（精度 20%以下、真度±20%以内）［添付資料 4.2.2.1-2］。

ラット血清中抗 rFSH 抗体はバリデート済みの ELISA により測定した。本法は、ステップ 1：カットポイント（2.0 µg/mL）以上を示す試料を陽性の可能性ありと判定、ステップ 2：ステップ 1 で陽性の可能性ありと判定した試料に対しての確認試験を実施（カットポイントは対照試料に対して 30%以上のシグナル低下）からなる。標準品は市販の抗 rFSH 抗体を用いた。LLOQ は 2.0 µg/mL、ULOQ は 80.0 µg/mL であった。測定内及び測定間精度はそれぞれ 8.8%及び 8.4%以下、測定間真度は理論値の±20.3%、平均の回収率は 85.9%であった。全てのラットの試験の QC 試料の測定値は許容基準の範囲内であった（精度 20%以下、真度±20%以内）。ラット 14 日間反復皮下投与毒性試験 2.6.4.3.2 とラッ

ト 4 週間反復皮下投与毒性試験 2.6.4.3.3 で ADA は検出されなかったが、中和抗体を測定したところ ADA の存在が示唆された。2 つの検査で結果が異なった原因は不明であったが、ADA の検出が妨害された可能性が考えられる［添付資料 4.2.2.1-3］。

カニクイザル血清中抗 rFSH 抗体はバリデート済みの ELISA により測定した。本法は、ステップ 1：カットポイント（陰性対照の吸光度より 0.114 高い）以上を示す試料を陽性の可能性ありと判定、ステップ 2：ステップ 1 で陽性の可能性ありと判定した試料に対しての確認試験を実施（カットポイントは対照試料に対して 30%以上のシグナル低下）からなる。標準品は市販の抗 rFSH 抗体を用いた。LLOQ は 2.0 µg/mL、ULOQ は 80.0 µg/mL であった。測定内及び測定間精度はそれぞれ 23.3%及び 29.3%以下、測定間真度は理論値の±22.8%、平均の回収率は 94.8%であった。全てのカニクイザルの試験で QC 試料の測定値は許容基準の範囲内であった（精度 20%以下、真度±20%以内）［添付資料 4.2.2.1-4］。

ラット血清中抗 rFSH 中和抗体はヒト FSH 受容体を発現したヒト胎児由来腎臓（HEK）293 細胞を用いたレポータージーンアッセイにより評価した。rFSH 活性が 5 倍以上変化したことから、中和抗体の産生が確認された［添付資料 4.2.3.7.7-1］。

2.6.4.3　吸収

薬物動態を評価した試験のリストを表 2.6.4- 2 に示す。ラットもカニクイザルも少なくとも投与後 24 時間まで FE 999049 の曝露が認められ、試験期間中の FE 999049 の曝露は持続していたことが示された。ラットの $t_{1/2}$ は 6.3～9.7 時間、カニクイザルの $t_{1/2}$ は雄 14.8～29.2 時間、雌 21.4～47.6 時間であった。2 週間の反復投与毒性試験で、ラットでは蓄積性がないか、ごくわずかであった。一方、カニクイザルでは多くの動物で著しい蓄積性を示した。これはカニクイザルの $t_{1/2}$ がラットよりも 2～8 倍長いことと同じ傾向であった。曝露は用量比以上に増加する傾向が見られた。この傾向はカニクイザルよりもラットにおいて顕著であり、主に高用量群で見られた。性差は見られなかった。表 2.6.4- 1 に示すように、ラットとカニクイザルにおける FE 999049 の TK は CHO 細胞由来の rFSH とおおむね同様であった。

表 2.6.4- 2　TK パラメータが算出された試験

Test System	Route of administration	Testing facility	Study number	Location
Rat	IV	Ferring Research Institute, San Diego, CA, USA	FE 999049 DS APK 1301	［4.2.2.2-1］
Rat	SC	[redacted]	ADR0055	［4.2.3.2-1］
Monkey	SC	[redacted]	1475-099	［4.2.3.2-3］
Monkey	SC	[redacted]	1475-101	［4.2.3.2-4］

2.6.4.3.1　雌性ラット単回静脈内投与後の薬物動態［添付資料 4.2.2.2-1］

FE 999049（Batch No 2192-010-QS MP）を 3 匹の雌性ラットに静脈内投与した（5.39 µg/mL in PBS + 0.1% BSA, 10 µg/kg を目標用量として 0.5 mL/rat）。血液は投与後 1、2、4、8、12、24、28、及び 32 時間に採取し、血清を調製した。試料中 FE 999049 濃度は検出限界 1 mIU/mL の固相 ELISA で測定し

た。PK パラメータは、WinNonLin® v6.3 software（Pharsight Corporation）の Levenberg and Hartley 分析法を用いた 2 コンパートメントモデルにより、各々の動物の血清中濃度推移から算出した。

結果を表 2.6.4- 3 に示す。雌性ラットに FE 999049（Batch No 2192-010-QS MP）を静脈内投与後の $t_{1/2}$ は 9.4 時間、クリアランスは 11.3 mL/h/kg であった。

表 2.6.4- 3　成熟雌ラットに FE 999049 を静脈内投与したときの PK パラメータ

	平均	標準偏差
V_c (mL/kg)	40	3
V_{ss} (mL/kg)	82	9
$t_{1/2}$ (h)	9.4	0.3
CL (mL/h/kg)	11.3	0.6

N（動物数）= 3; CL = 全クリアランス; $t_{1/2}$ = 消失半減期; V= 分布容積; Vc =セントラル V; Vss= 定常状態での V

2.6.4.3.2　ラット 14 日間反復皮下投与による用量設定試験［添付資料 4.2.3.2-1］

投与前の rFSH レベルは薬物非投与の雌雄各 5 匹の試料を用いて測定した。投与 1 日目の皮下投与（1.45、14.5、145 µg/kg/day）後の FE 999049 投与群のサテライト動物雌雄各 4 匹／時点から投与後 4、8、12、24、48、及び 72 時間に血液を採取した。対照群の雌雄各 3 匹からは、投与後 12 時間に血液を採取した。投与 14 日目に FE 999049 投与群の雌雄各 2 匹／時点から投与後 4、8、12、24、48、及び 72 時間に、対照群の雌雄各 3 匹から投与後 12 時間に血液を採取した。投与 1 及び 14 日目の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4- 4 及び表 2.6.4- 5 に示す。定量範囲は 1.00～33.4 ng/mL であった。

FE 999049 を 1.45 µg/kg/day 皮下投与後の血清中 rFSH 濃度はいずれの時点でも定量下限値未満であったため、TK パラメータは算出できなかった。FE 999049 を 14.5 及び 145 µg/kg/day 皮下投与後の血清中 rFSH 濃度は少なくとも投与後 24 時間まで定量可能であり、これらの投与量における持続的な曝露が示された。FE 999049 を初回及び 14 日間反復皮下投与後の最高血清中濃度到達時間（T_{max}）は 4～12 時間、$t_{1/2}$ は 6.3～9.7 時間であった。投与 1 日目での雄の最高血清中濃度（C_{max}）と血清中濃度時間曲線下面積（AUC）は用量比以下に増加したが、投与 1 日目の雌及び投与 14 日目の雌雄の C_{max} と AUC は用量比以上に増加した。投与 1 日目の 14.5 µg/kg/day で、雄は雌に比べて C_{max} と AUC が高かったが、投与 1 日目の 145 µg/kg/day と投与 14 日目の 14.5 及び 145 µg/kg/day では、曝露について明らかな性差はみられなかった。14.5 及び 145 µg/kg/day 投与した雌雄とも、1 日 1 回の反復投与で、rFSH の蓄積は認められなかった。2 週間の反復投与後に ADA は検出されなかった。これは測定法に用いた検出試薬の種特異性が原因と考えられる。雄 14.5 µg/kg/day の初回投与後の曝露は同量投与された雌に比べてかなり高く、C_{max} と AUC は用量比以下に増加した。これは雄 1 例の投与後 12 時間での血清中濃度が高かったためであると考えられた（平均 46.3 ng/mL に対して 158 ng/mL）。この値を外れ値として除外することはできないが、145 µg/kg/day の初回投与後又は 14.5 及び 145 µg/kg/day の反復投与後の動物では性差は見られなかった。

初回投与後の雌や反復投与後の雌雄で、C_{max} と AUC は用量比以上に増加した。14.5 µg/kg/day の初回投与後、性差が認められ、曝露の増加が用量比以下であったのは、偶発的であったと考えられる。もしこの 1 例の高値を除いてパラメータを算出すると、投与 1 日目の 14.5 µg/kg/day において性差は認められず、C_{max} と AUC は雌と同じく用量比以上に増加する。

表 2.6.4- 4　ラット 14 日間皮下投与毒性試験（用量設定試験）：Day 1 における rFSH の平均血清中濃度（ng/mL）及び平均 TK パラメータ（未補正データセット）

	1.45 µg/kg/day		14.5 µg/kg/day		145 µg/kg/day	
Timepoint (h)	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
4	BLQ	BLQ	7.4	8.7	165.3	139.9
8	BLQ	BLQ	8.4	9.3	150.8	*175.5*
12	BLQ	BLQ	46.3	7.5	108.8	*116.7*
24	BLQ	BLQ	3.7	2.2	*60.4*	*50.1*
48	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	*6.3*	*3.4*
72	BLQ	BLQ	0.4	BLQ	*0.7*	BLQ
C_{max} (ng/mL)	a	a	46.3	9.3	165.3	175.5
T_{max} (h)	a	a	12	8	4	8
$t_{1/2}$[b] (h)	a	a	9.7	a	7.4	7.1
AUC_{0-24} (ng·h /mL)	a	a	456.0	145.0	2494.0	2494.0
AUC_{0-72} (ng·h /mL)	a	a	503.9	171.8	3378.5	3175.5
AUC_{inf} (ng·h /mL)	a	a	509.0	a	3385.8	3168.3
Female vs Male C_{max}	a		0.2		1.1	
Female vs Male AUC_{0-24}	a		0.3		1.0	
Dose proportionality C_{max} Ratio[c]	-	-	-	-	3.6	18.9
Dose proportionality AUC_{0-24} Ratio[c]	-	-	-	-	5.5	17.2

BLQ = below the level of quantification (1.00 ng/mL)

a: not calculated; b: イタリックで記載された血清濃度と時間を用いて計算された $t_{1/2}$; c: より低い用量に対する用量比例性

表 2.6.4- 5　ラット 14 日間皮下投与毒性試験（用量設定試験）：Day 14 における rFSH の平均血清中濃度（ng/mL）及び平均 TK パラメータ

	1.45 µg/kg/day		14.5 µg/kg/day		145 µg/kg/day	
Timepoint (h)	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
4	BLQ	BLQ	6.4	5.2	114.6	169.7
8	BLQ	BLQ	7.8	3.7	222.6	14.1
12	BLQ	BLQ	3.0	9.3	*142.1*	101.5
24	BLQ	BLQ	5.7	2.7	*12.4*	29.5
48	BLQ	BLQ	BLQ	2.0	*2.1*	BLQ
72	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
C_{max} (ng/mL)	a	a	7.8	9.3	222.6	169.7
T_{max} (h)	a	a	8	12	8	4
$t_{1/2}$[b] (h)	a	a	a	a	6.3	a
AUC_{0-24} (ng·h /mL)	a	a	120.4	130.5	2581.0	1747.3
AUC_{0-72} (ng·h /mL)	a	a	188.5	211.0	2784.0	2102.5
AUC_{inf} (ng·h /mL)	a	a	a	a	2776.8	BLQ
Female vs Male C_{max}	a		1.2		0.8	
Female vs Male AUC_{0-24}	a		1.1		0.7	
Dose proportionality C_{max} Ratio[c]	-	-	-	-	28.4	18.3
Dose proportionality AUC_{0-24} Ratio[c]	-	-	-	-	21.4	13.4
R_0 (AUC_{0-24}) [d]	a	a	0.3	0.9	1.0	0.7

BLQ = below the level of quantification (1.00 ng/mL)
a: 算出できなかった; b: イタリックで記載された血清濃度と時間を用いて計算された $t_{1/2}$; c: より低い用量に対する用量比例性; d: AUC_{0-24} Day 14/ AUC_{0-24} Day 1

2.6.4.3.3　ラット 4 週間反復皮下投与毒性試験［添付資料 4.2.3.2-2］

初回投与後 24 時間並びに 2、3、4、及び 8（回復期の終わり）週目の最初の日に雌雄各 3 匹のトラフ濃度を測定した。投与 3 週目以降、血清中濃度に大きな個体差が見られ、場合によっては 1 桁以上の差が見られた。他の PK パラメータは算出しなかった。試験の結果を［2.6.6.3.2］に示す。定量範囲は 0.72～24.0 ng/mL であった。

2.6.4.3.4　カニクイザル皮下投与最大耐用量試験［添付資料 4.2.3.2-3］

この試験は、単回投与の用量漸増相とその後の 7 日間投与の固定用量相に分けて実施した。用量漸増相では、雌雄各 1 匹のカニクイザルに 36.3、72.5、145、及び 290 µg/kg の FE 999049 をそれぞれ 1、5、9、及び 15 日目に単回皮下投与し、投与前及び各投与後 1、2、4、8、12、及び 24 時間に血液を採取した。さらに最高用量投与後 48、96、144 時間の血液を採取した。固定用量相では、雌雄各 1 匹のカニクイザルに 290 µg/kg/day の FE 999049 を 7 日間反復皮下投与した。投与 1 及び 7 日目の投与前及

び投与後 1、2、4、8、12、及び 24 時間に血液を採取した。TK パラメータを表 2.6.4- 6、表 2.6.4- 7、表 2.6.4- 8 に示す。定量範囲は 1.00～33.4 ng/mL であった。

用量漸増相では、雌雄のカニクイザルの血清中 FE 999049 濃度は皮下投与後 4～8 時間に最高レベルに達した。見かけの $t_{1/2}$ は 145 及び 290 µg/kg/day で算出可能で、20.3～43.7 時間だった。低用量では投与後 24 時間までしか採血していないため、投与後 144 時間まで血液を採取した最高用量の $t_{1/2}$（20.3 及び 23.4 時間）のみが信頼できる値であると考えられる。$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} の用量依存性を表 2.6.4- 7（n = 1/群）に示す。用量が 36.3～145 µg/kg まで増えたとき、$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} は、雌雄のカニクイザルでおおむね用量に比例して増加した。一方、用量が 145 から 290 µg/kg まで 2 倍増えたとき、曝露は雌では用量比以上に増加した（2.7 倍）が雄ではおおむね用量に比例して増加した（1.5 倍）。
FE 999049 への曝露は、36.3～145 µg/kg までの用量で、雌雄で同程度だったが、290 µg/kg では雌の $AUC_{0\text{-}tz}$（tz：定量可能な最後の時間）及び C_{max} が雄に比べてそれぞれ 1.5 及び 2.6 倍高かった。これは各群の個体数が雌雄各 1 匹のみであるためと考えられる。

290 µg/kg/day の FE 999049 を 7 日間反復投与した固定用量相での TK パラメータを表 2.6.4- 8 に示す。FE 999049 は 1 日 1 回の皮下反復投与後徐々に吸収され、投与後 4～8 時間で C_{max} に達した。血清中 FE 999049 濃度は投与 1 日目と 7 日目の投与後 24 時間にも検出され、FE 999049 の曝露が 7 日間の投与期間中に持続していたことが確認された。算出可能な投与 7 日目の雄及び雌のカニクイザルの $t_{1/2}$ はそれぞれ 21.6 及び 21.4 時間であった。しかし、算出に用いた時点が短いため、これらの値の信頼性は低いと考えられる。290 µg/kg/day の FE 999049 を 7 日間反復皮下投与したとき、カニクイザルの血清中 FE 999049 濃度の蓄積が認められ、投与 7 日目の AUC は投与 1 日目の AUC に比べて、雄及び雌でそれぞれ 1.52 及び 1.86 倍増加した。投与 7 日目における血清中 FE 999049 の蓄積は 1.9 倍までであった。これは消失半減期から予測されるものであり、FE 999049 の薬物動態は反復投与では変化しないことが示された。

用量漸増相で ADA を投与 1、14、25 日目に評価したところ、25 日目に雌雄のカニクイザルで陽性反応が見られた。投与 15～25 日目に FE 999049 に対する免疫応答が生じたが、290 µg/kg 投与時の TK データに対する ADA の影響を評価することはできなかった。

表 2.6.4- 6　カニクイザル MTD 試験：漸増相における FE 999049 の TK パラメータ

Study Day	FE 999049 Dose Level (µg/kg)	Sex	$AUC_{0\text{-}tz}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0\text{-}24}$ (norm)	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (norm)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
Day 1	36.3	Male	2211	2211	61.0	136	3.74	8.00	NC
		Female	2342	2342	64.5	131	3.62	8.00	NC
Day 5	72.5	Male	3690	3690	50.9	223	3.08	8.00	NC
		Female	4350	4350	60.0	225	3.11	8.00	NC
Day 9	145	Male	8555	8555	58.9	529	3.65	4.00	22.7
		Female	8845	8845	60.8	474	3.27	4.00	43.7
Day 15	290	Male	30885	12615	43.6	724	2.50	8.00	20.3
		Female	46908	23925	82.6	1849	6.38	4.00	23.4

N = 1/sex, AUC (norm) = AUC[ng·h/mL]/dose [µg/kg], C_{max} (norm) = C_{max} [ng/mL]/dose [µg/kg], NC = Not calculable

表 2.6.4- 7　カニクイザル MTD 試験：漸増相における AUC_{0-24} と C_{max} の増加

Dose	36.3 µg/kg		72.5 µg/kg		145 µg/kg		290 µg/kg	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Dose Increment	-	-	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Increase in AUC_{0-24h}	-	-	1.7	1.9	2.3	2.0	1.5	2.7
Increase in C_{max}	-	-	1.6	1.7	2.4	2.1	1.4	3.9

表 2.6.4- 8　カニクイザル MTD 試験：固定用量相における FE 999049 の TK パラメータ

Sampling Occasion	Sex	AUC_{0-tz} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	RA_{AUC}	RA_{Cmax}
Day 1	Male	18053	NC	1030	8.0	NC	NA	NA
	Female	16675	NC	899	8.0	NC	NA	NA
Day 7	Male	27405	NA	1617	4.0	21.6	1.52	1.57
	Female	31030	NA	1573	4.0	21.4	1.86	1.75

用量は 290 µg/kg/day．投与期間は day 1～day7．N = 1/sex
NA = Not applicable, NC = Not calculable, RA = Accumulation ratio. tz = 24 h
RA_{AUC} = AUC_{0-tz} Day 7/AUC_{0-tz} Day 1，RA_{Cmax} = C_{max} Day 7/C_{max} Day 1

2.6.4.3.5　カニクイザル 4 週間反復皮下投与毒性試験［添付資料 4.2.3.2-4］

1 群あたり雌雄各 3 匹のカニクイザルに 0（溶媒対照）、0.522、5.22、及び 52.2 µg/kg/day の FE 999049 を 4 週間投与した。回復性の評価のために対照群と高用量群に雌雄各 1 匹を追加した。投与 1 日目と 28 日目に全てのカニクイザルから血液を採取した。採血時点は投与前と投与後 1、2、4、8、12、及び 24 時間で、回復期間の動物は更に最終投与後 48、96、及び 144 時間にも採血した。定量範囲は 0.72～24.0 ng/mL であった。

血清中 FE 999049 濃度は対照群のほとんどの動物で検出されなかった。1 匹の動物が投与 28 日目の 4 時点で 0.72～0.75 ng/mL の血清中 FE 999049 濃度を示したが、定量下限値を 3.6%超える程度であった。投与 1 日目の投与前に 5.22 及び 52.2 µg/kg/day 群の 1 匹がそれぞれ 0.92 及び 2.0 ng/mL の血清中 FE 999049 濃度を示した。少数の投与前試料と対照群の 1 匹の動物で血清中 FE 999049 濃度が検出された理由は不明である。しかし、これらの動物では内因性 FSH が高く、交差反応を示して検出された可能性が考えられる。カニクイザルに 0.522 µg/kg/day（表 2.6.4- 9）、5.22 µg/kg/day（表 2.6.4- 10）、52.2 µg/kg/day（表 2.6.4- 11）の FE 999049 を反復皮下投与後、FE 999049 は徐々に吸収され、投与後 2～12 時間で T_{max} に達した。

投与 1 日目で、AUC_{0-24} の平均値は 0.522～52.2 µg/kg/day までの用量範囲（用量で 100 倍）でおおむね用量比以上に増加した（雄で 109 倍、雌で 183 倍の増加）。例外として、5.22 から 52.2 µg/kg/day に用量が 10 倍増えた雄において、用量比以下の増加（8.9 倍）を示した（表 2.6.4- 12）。投与 28 日目では、AUC_{0-24} は 0.522～52.2 µg/kg/day までの用量範囲（用量で 100 倍）で用量比以上に増加した（雄で 104 倍、雌で 161 倍の増加）。一方、0.522 から 5.22 µg/kg/day に用量が 10 倍増えた雄では、用量比以下の増加を示し（6.6 倍）、雌ではおおよそ用量に比例して増加した（表 2.6.4- 13）。

終末相におけるみかけの $t_{1/2}$ は雄及び雌それぞれおよそ 18 及び 26 時間であった。これは雌雄各 1 匹の回復期間中の結果より算出されたものである。4 週間反復投与後の曝露は、ほとんどの雄及び雌においてそれぞれ 1.3～4.3 倍及び 1.6～5.2 倍に増加し、反復投与後に血清中 FE 999049 の明らかな蓄積が認められた。0.522～52.2 µg/kg/day の用量範囲において FE 999049 の曝露に性差は認められなかった。動物の個体差は投与 1 日目ではおおむね小さく、$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} の変動係数（CV%）はそれぞれ 9.7%～19.5%及び 4.6%～30.1%であった。一方、投与 28 日目では $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} の CV%はそれぞれ 39.3%～84.6%及び 38.7%～83.8%であり、個体差が大きくなった。

ADA の生成量は用量と共に増加した（表 2.6.4- 14）。反復投与後の曝露に大きな個体差が認められ、5 匹の動物で経時的な曝露の低下が認められたことは中和抗体の産生を示唆していると考えられる。

表 2.6.4- 9　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：0.522 µg/kg/day

Sampling Occasion	Sex	Summary Statistics	$AUC_{0\text{-}\tau}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0\text{-}\tau}$ (norm)	$AUC_{0\text{-}tz}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (norm)	$*T_{max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	RA_{AUC}	RA_{Cmax}
Day 1	Male	N	2	2	2	0	3	3	3	0	NA	NA
		Mean	24.2	46.3	23.2	NC	1.36	2.60	4.00	NC	NA	NA
		SD	NC	NC	NC	NC	0.74	1.41	(4.00-12.0)	NC	NA	NA
		CV%	NC	NC	NC	NC	54.1	54.1	NA	NC	NA	NA
	Female	N	2	2	2	0	3	3	3	0	NA	NA
		Mean	15.0	28.7	10.5	NC	1.04	1.99	4.00	NC	NA	NA
		SD	NC	NC	NC	NC	0.27	0.521	(2.00-4.00)	NC	NA	NA
		CV%	NC	NC	NC	NC	26.2	26.2	NA	NC	NA	NA
Day 28	Male	N	1	1	1	NA	1	1	1	0	1	1
		Mean	65.3	125	65.3	NA	2.95	5.65	4.00	NC	1.60	1.34
		SD	NC	NC	NC	NA	NC	NC	(4.00-4.00)	NC	NC	NC
		CV%	NC	NC	NC	NA	NC	NC	NA	NC	NC	NC
	Female	N	3	3	3	NA	3	3	3	1	2	3
		Mean	53.8	103	53.8	NA	2.91	5.57	8.00	26.3	3.67	2.94
		SD	14.2	27.2	14.2	NA	0.34	0.643	(4.00-12.0)	NC	NC	0.827
		CV%	26.5	26.5	26.5	NA	11.5	11.5	NA	NC	NC	28.1

AUC (norm) = AUC [ng·h/mL]/dose [µg/kg/day], C_{max} (norm) = C_{max} [ng/mL]/dose [µg/kg/day], RA_{AUC} = ($AUC_{0\text{-}\tau}$ Day 28)/($AUC_{0\text{-}\tau}$ Day1), RA_{Cmax} = (C_{max} Day 28)/(C_{max} Day1), NA = Not applicable, NC = Not calculable, $*T_{max}$ = median value (min-max), τ = 24 h

表 2.6.4- 10　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：5.22 µg/kg/day

Sampling Occasion	Sex	Summary Statistics	$AUC_{0-\tau}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0-\tau}$ (norm)	AUC_{0-tz} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (norm)	$*T_{max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	RA_{AUC}	RA_{Cmax}
Day 1	Male	N	3	3	3	2	3	3	3	2	NA	NA
		Mean	295	56.6	295	510	18.0	3.45	4.00	14.8	NA	NA
		SD	57.4	11.0	57.4	NC	5.43	1.04	(4.00-12.0)	NC	NA	NA
		CV%	19.5	19.5	19.5	NC	30.1	30.1	NA	NC	NA	NA
	Female	N	3	3	3	1	3	3	3	1	NA	NA
		Mean	218	41.7	218	699	12.2	2.34	4.00	47.6	NA	NA
		SD	21.1	4.05	21.1	NC	1.43	0.273	(4.00-8.00)	NC	NA	NA
		CV%	9.7	9.7	9.7	NC	11.7	11.7	NA	NC	NA	NA
Day 28	Male	N	3	3	3	NA	3	3	3	2	3	3
		Mean	434	83.2	434	NA	21.5	4.12	4.00	29.2	1.64	1.42
		SD	367	70.4	367	NA	18.0	3.45	(4.00-4.00)	NC	1.38	1.24
		CV%	84.6	84.6	84.6	NA	83.8	83.8	NA	NC	84.3	87.3
	Female	N	3	3	3	NA	3	3	3	1	3	3
		Mean	564	108	564	NA	30.6	5.86	2.00	40.0	2.54	2.48
		SD	221	42.4	221	NA	11.8	2.27	(2.00-12.0)	NC	0.843	0.903
		CV%	39.3	39.3	39.3	NA	38.7	38.7	NA	NC	33.2	36.3

AUC (norm) = AUC [ng·h/mL]/dose [µg/kg/day], C_{max} (norm) = C_{max} [ng/mL]/dose [µg/kg/day], RA_{AUC} = ($AUC_{0-\tau}$ Day 28)/($AUC_{0-\tau}$ Day1), RA_{Cmax} = (C_{max} Day 28)/(C_{max} Day1), NA = Not applicable, NC = Not calculable, $*T_{max}$ = median value (min-max), τ = 24 h

表 2.6.4- 11　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：52.2 µg/kg/day

Sampling Occasion	Sex	Summary Statistics	$AUC_{0-\tau}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0-\tau}$ (norm)	AUC_{0-tz} (ng·h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (norm)	$*T_{max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	RA_{AUC}	RA_{Cmax}
Day 1	Male	N	4	4	4	0	4	4	4	0	NA	NA
		Mean	2631	50.4	2631	NC	144	2.75	8.00	NC	NA	NA
		SD	337	6.46	337	NC	21.0	0.402	(4.00-8.00)	NC	NA	NA
		CV%	12.8	12.8	12.8	NC	14.6	14.6	NA	NC	NA	NA
	Female	N	4	4	4	2	4	4	4	2	NA	NA
		Mean	2751	52.7	2751	5147	173	3.31	4.00	22.6	NA	NA
		SD	314	6.02	314	NC	8.04	0.154	(4.00-8.00)	NC	NA	NA
		CV%	11.4	11.4	11.4	NC	4.6	4.6	NA	NC	NA	NA
Day 28	Male	N	3	3	3	NA	3	3	3	1	3	3
		Mean	6838	131	9866	NA	344	6.59	8.00	17.9	2.83	2.61
		SD	4500	86.2	7673	NA	227	4.34	(8.00-12.0)	NC	1.89	1.72
		CV%	65.7	65.7	77.7	NA	65.8	65.8	NA	NC	66.8	66.0
	Female	N	4	4	4	NA	4	4	4	2	4	4
		Mean	8613	165	10075	NA	480	9.20	6.00	23.3	3.22	2.75
		SD	3430	65.7	2730	NA	201	3.85	(4.00-8.00)	NC	1.49	1.03
		CV%	39.8	39.8	27.1	NA	41.8	41.8	NA	NC	46.1	37.6

AUC (norm) = AUC [ng·h/mL]/dose [µg/kg/day], C_{max} (norm) = C_{max} [ng/mL]/dose [µg/kg/day], RA_{AUC} = ($AUC_{0-\tau}$ Day 28)/($AUC_{0-\tau}$ Day1), RA_{Cmax} = (C_{max} Day 28)/(C_{max} Day1), NA = Not applicable, NC = Not calculable, $*T_{max}$ = median value (min-max), τ = 24 h

表 2.6.4- 12　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：Day 1 における用量相関性

Dose	0.522 µg/kg/day		5.22 µg/kg/day		52.2 µg/kg/day	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Dose Increment	-	-	10.0	10.0	10.0	10.0
Increase in AUC_{0-24}	-	-	12.2	14.5	8.9	12.6
Increase in C_{max}	-	-	13.2	11.7	8.0	14.2

表 2.6.4- 13　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：TK パラメータ：Day 28 における用量相関性

Dose	0.522 µg/kg/day		5.22 µg/kg/day		52.2 µg/kg/day	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Dose Increment	-	-	10.0	10.0	10.0	10.0
Increase in AUC_{0-24}	-	-	6.6	10.5	15.8	15.3
Increase in C_{max}	-	-	7.3	10.5	16.0	15.7

表 2.6.4- 14　カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験：抗 FE 999049 抗体生成, ベースラインからの変化

Dose (µg/kg/day)	Sex	Animal No.	Concentration, µg/mL					Statistic		
			Day 1	Day 28	Day 56	$\Delta_{(D28-D1)}$	$\Delta_{(D56-D1)}$	Mean	SD	n
0	M	24878	0	ND	ND	-	-			
		24884	0	0	ND	0	-			
		24895	11.6	9.98	9.55	0	0			
		24903	0	0	ND	0	-	0	0	3
	F	24770	0	0	ND	0	-			
		24782	2.69	25.2	ND	23	-			
		24792	2.61	5.19	0	3	0			
		24793	0	0	ND	0	-	7	11	4
0.522	M	24879	0	0	ND	0	-			
		24881	0	431	ND	431*	-			
		24891	4.17	72.8	ND	68*	-	166	232	3
	F	24766	0	0	ND	0	-			
		24771	16.9	31.5	ND	15	-			
		24772	2.53	5.55	ND	3	-	6	8	3
5.22	M	24871	2.42	21.4	ND	19	-			
		24880	0	423	ND	423*	-			
		24885	5.40	2350	ND	2345*	-	929	1243	3
	F	24768	0	415	ND	415*	-			
		24788	13.2	395	ND	382*	-			
		24794	4.62	60.8	ND	56*	-	284	198	3
52.2	M	24877	0	13800	ND	13800*	-			
		24890	0	748	492	748*	492			
		24896	0	686	ND	686*	-			
		24906	0	3170	ND	3170*	-	4601	6241	4
	F	24726	4.17	368	ND	364*	-			
		24727	13.5	786	ND	773*	-			
		24728	0	67.1	ND	67*	-			
		24735	0	0	0	0	0	301	352	4

*最も高いコントロール値の 2 倍以上ベースラインから外れているため（23 x 2 =46）、この動物の抗体産生は陽性と考えられた。

次の特徴を持つ検体は”0”とする：n/a と BLQ。負のデータは”0”とする。

ND = データなし

2.6.4.4　分布

本薬の分布に関する試験は実施しなかった。FSH の分布は文献に報告されている(1)。

2.6.4.5　代謝

本薬の代謝に関する試験は実施しなかった。FSH の代謝は文献に報告されている(2)。

2.6.4.6　排泄

本薬の排泄経路について試験は実施しなかった。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1　ラットにアシアロフェチンと同時静脈内投与された FE 999049 及びゴナールエフの血清中濃度推移の比較［添付資料 4.2.2.7-1］

ASGP 受容体は、末端にガラクトース、N-アセチルガラクトサミン（GalNac）、あるいは α2, 6 結合したシアル酸（Sia）と GalNac（Siaα2, 6GalNac）残基を持つ血清糖タンパク質の、体循環からの速やかな消失を媒介する肝臓の受容体である(3)。アシアロフェチン（ASF）は、脱シアル酸化されたフェチン糖タンパク質で、ASGP 受容体に結合及び阻害するガラクトースを糖鎖の末端に持つ。この試験は、ラットに FE 999049 とゴナールエフを過剰の ASF と同時に静脈内投与したときの体内動態を調べることにより、FE 999049 とゴナールエフの薬物動態の違いを明らかにする目的で行った。

FE 999049（2 µg/head）を ASF（10.8 mg/head）と静脈内に同時投与したときの AUC は、ASF を投与しなかった場合と比較し高かった。一方、ゴナールエフ（2 µg/head）では、ASF の投与の有無による差は認められなかった（図 2.6.4- 1）。ASF は、肝臓で ASGP 受容体に速やかに結合するため(4)、大量投与したとき、しばらくの間競合によって ASGP 受容体の処理能力が失われる。FE 999049 は、ラットでは部分的にこの経路で消失していると考えられる。

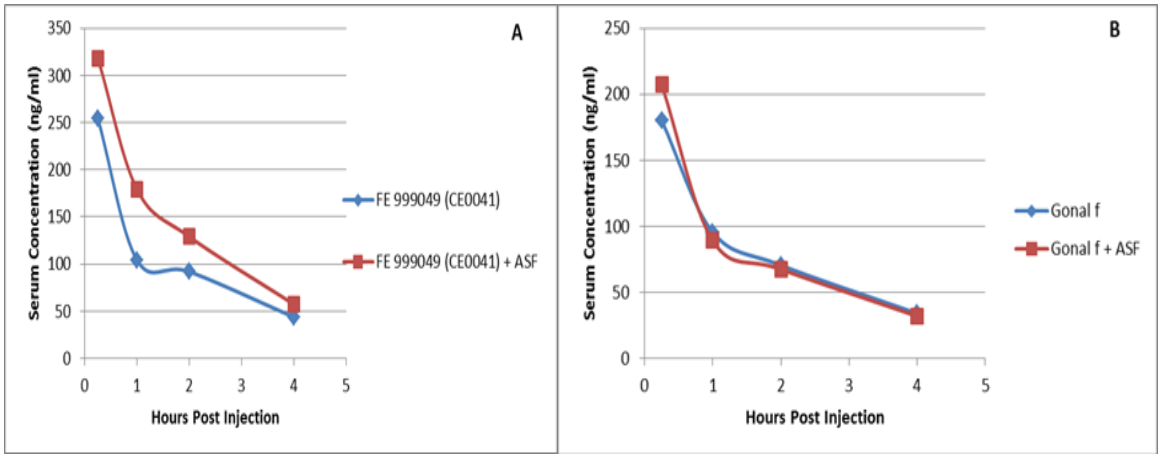


図 2.6.4- 1　FE 999049（A）及びゴナールエフ（B）を静脈内投与したときの血清中濃度推移（ASF 併用あるいは非併用）

2.6.4.8.2　アシアロ糖タンパク質受容体ノックアウトマウスモデルでの FE 999049 及びゴナールエフの薬物動態比較［添付資料 4.2.2.7-2］

糖付加反応での FE 999049 とゴナールエフの違いは、ゴナールエフでは α2,6 位結合した Sia と GalNac がないことである。糖鎖末端の Siaα2 と 6GalNac 残基はラット及びマウスの ASGP 受容体による速やかな消失のきっかけとなる(5)。ASGP 受容体は、末端にガラクトース、GAlNac、あるいは Sia と α2,6GalNac 残基をもつ血清糖タンパク質の体循環からの速やかな消失を媒介する肝臓の受容体である(3)。この試験は、ASGP 受容体ノックアウトマウスで ASGP 受容体効果を消失させた時、FE 999049 とゴナールエフの PK を評価すること、また、これらの化合物が区別されるかどうかを確認する目的で行った。ホモ接合型 ASGP 受容体ノックアウトマウス（B6;129S7-*Asgr2*^{tm1Her}/J）(6)は、Jackson Laboratory から入手し、実施施設内で飼育した。野生型 C57Bl/6J マウスは Harlan Laboratories INC から入手した。

FE 999049 の 2 つのバッチ（CE0041 及び F10426）とゴナールエフの 1 バッチを 6 µg/mL, 0.5 mL を皮下投与して、評価した。各化合物に対して 3 匹の動物を使用し、AUC は平均の血清中濃度から計算した。

野生型の C57B1/6J マウスでの FE 999049 とゴナールエフの PK 解析の結果、ゴナールエフに対して FE 999049 の AUC は 92%と同等な結果を示した（表 2.6.4- 15）。一方、ASGP 受容体ノックアウトマウスでは、ゴナールエフに比べて FE 999049 は高い PK 値を示し、ゴナールエフに対する FE 999049 の AUC は 123%～140%であった（表 2.6.4- 16）。

表 2.6.4- 15　野生型マウスにおける FE 999049 及びゴナールエフの AUC と%AUC

Parameter	GONAL-F	FE 999049	
		CE0041	F10426
AUC(0-t) (µg·h/mL)*	3.80	3.50	3.50
% AUC	100	92.00	92.00
Elimination half-life (h)	7.46	9.45	8.10

FE 999049 の 2 つの異なるバッチ（6 µg/mL）とゴナールエフの 1 バッチ（6 µg/mL）を 0.5 mL 皮下投与
* "PK Solutions 2.0" software で算出

表 2.6.4- 16　ASGP 受容体ノックアウトマウスにおける FE 999049 及びゴナールエフの AUC と%AUC

Parameter	GONAL-F	FE 999049	
		CE0041	F10426
AUC(0-t) (µg·h/mL)*	3.50	4.90	4.30
% AUC	100.00	140.00	123.00
Elimination half-life (h)	7.54	8.58	7.18

FE 999049 の 2 つの異なるバッチ（6 µg/mL）とゴナールエフの 1 バッチ（6 µg/mL）を 0.5 mL 皮下投与
* "PK Solutions 2.0" software で算出

2.6.4.9　　考察及び結論

2.6.4.9.1　　薬物動態／トキシコキネティクス

FSH の薬物動態はよく知られており、文献(2)でも報告されていることから、分布、代謝、排泄に関する追加試験は実施しなかった。皮下投与後の曝露データと PK パラメータは、ラット及びカニクイザルの毒性試験の TK データから得られ、またラット静脈内投与後の PK パラメータはラット PK 試験から収集した。

$t_{1/2}$ はラットでは 6.3～9.7 時間と算出されたが、カニクイザルでは雄 14.8～29.2 時間、雌 21.4～47.6 時間であった。14 日間の反復皮下投与毒性試験で、ラットでは蓄積はないか、あってもわずかであった。一方、カニクイザルでは多くの動物で著しい蓄積があり、28 日反復投与後の $AUC_{0\text{-}24}$ and C_{max} の個別蓄積比は雄で 1.3～4.3、雌で 1.6～5.2 であった。これは、カニクイザルの $t_{1/2}$ がラットに比べて 2～8 倍長いことと同じ傾向であった。また、用量増加に対する曝露の比は、どちらの種でも用量比以上に増加し、その用量比からの開きは最大で 2 倍で、主に高用量群でみられた。ただし、カニクイザルの各個体の曝露は最高用量を除くと、用量比に近い割合で増加した。両方の種で、TK パラメータに性差は無いと考えられた。ラット単回静脈内投与後の PK 試験の結果、$t_{1/2}$ は皮下投与試験と同等であった。また、FE 999049 の PK は他の組換え FSH で報告された PK とも同等であった（表 2.6.4- 1）。

ラットとカニクイザルの個体差は投与初日では小さかった。しかし、2 週間後あるいはそれ以降では、個体差はより大きくなった。これは、ADA が産生されていることを示唆している。ADA は、薬物のクリアランスを変えたり、FE 999049 の分析を妨げることにより PK に影響を与える。事実、高レベルの抗体がカニクイザル最大耐量（MTD）試験の最高用量投与後の 2/2 例や 4 週間反復投与後の過半数のカニクイザル（17/20 例）で認められた。反復投与後の曝露に大きな個体差が認められ、5 匹の動物において経時的な曝露の低下が認められたことは、中和抗体の産生を示唆していると考えられる。

カニクイザルの所見とは対照的に、ラットで ADA は検出されなかった。一方、ラットでの中和抗体産生をみるための別の試験［添付資料 4.2.3.7.7-1］では、投与されたほとんど全ての動物で、投与量に関係なく 2～4 週間の間で中和抗体を産生していた。この矛盾した結果は、現在のところラット ADA を検出するための分析法として使われている protein G のラット抗体に対する親和性が種特異的に低いために起こったと考えている。FE 999049 の干渉を避けるために 4 週間投与しなかった群の検体を細胞を用いた *in vitro* 法により調べた結果、中和抗体は 7.31 µg/kg/day から産生されていた。FE 999049 投与ラットの血清 1 µL を加えて測定した FSH 活性の 50%有効性濃度（EC_{50}）と対照動物ラット血清での EC_{50} との比から求めたポテンシーシフトは高用量群の雄と中及び高用量群の雌で 5 倍以上増加した［添付資料 4.2.3.2-2］。

結論として、ラット及びカニクイザルにおける PK/TK 解析から、毒性試験では良好な曝露があったことが証明された。$t_{1/2}$ は、カニクイザルではラットに比べ 2～8 倍長く、このため反復投与後の蓄積はカニクイザルでより明らかであった。曝露は、用量比以上に増加傾向がみられ、カニクイザルよりもラットで顕著であった。また、この傾向は、主に高用量群で認められた。性差は認められなかった。ラット及びカニクイザルにおける FE 999049 の TK パラメータは、CHO 細胞由来の他の FSH で報告された値と同じであった。また、高レベルの ADA が、カニクイザルで観察された。ラットでは、高レベルの中和抗体が観察された。

2.6.4.9.2　　消失

FSH は生体内で生成されるホルモンで、その吸収・分布・代謝・排泄は文献で報告されている(1) (2)。FE 999049 のアミノ酸配列は内因性のヒト FSH の配列と同じであり［添付資料 3.2.S.3.1］、吸収・分布・代謝・排泄を評価する一般的な薬物動態試験は不要と思われた。しかし、臨床試験の結果、FE 999049 は、ゴナールエフと比べてクリアランスに違いがあることが示された(8)。ゴナールエフ産生細胞のハムスター由来の CHO 細胞は、FE 999049 産生細胞のヒト由来の HEK293 細胞と異なり、α2,6 結合でシアル酸を付加できないため(2)、シアル酸付加のパターンがハムスター細胞由来のゴナールエフとヒト細胞由来の FE 999049 で異なっている。マウスやラットでは、他の哺乳類より α2,6 結合糖鎖の代謝クリアランスが速いことが報告されている。そのため、α2,6 結合糖鎖のないゴナールエフより FE 999049 のげっ歯類でのクリアランスは速い。ラット *in vivo* 試験系で求めた FSH 活性力価は産生細胞の由来によって異なる可能性がある。消失におけるこの違いは、ASGP 受容体に対する特異的親和性によるものと考えられる(3) (15) (16)。この理由を明らかにするため、［添付資料 4.2.2.7-2］と［添付資料 4.2.2.7-1］の 2 つの追加試験を実施した。

野生型マウス（C57Bl/6J）に、CHO 細胞由来組換え FSH（例えばゴナールエフ）と FE 999049 を同じ重量で皮下投与したときの曝露に違いは観察されなかった。一方、雄性 ASGP 受容体ノックアウトマウスモデルにおいて同様の実験をしたとき、FE 999049 の曝露が増加した［添付資料 4.2.2.7-2］。

さらに、雄性 Sprague Dawley 系ラットに大量の ASF を FE 999049 と同時静脈内投与したときの競合を調べた結果、ASF の同時投与は FE 999049 の曝露を増加させたが、ゴナールエフでは曝露に差がなかった［添付資料 4.2.2.7-1］。これには、両者が保有している糖鎖構造の違いが影響していると思われる。

2.6.4.9.3　　糖鎖修飾の影響

排泄経路に関する具体的な研究は実施しなかった。しかし、既知の事実をまとめた総説では、FSH を含むゴナドトロピンは、例えば ASGP 受容体などにより捕捉されたのち肝臓で代謝される、あるいは未変化体や α-及び β-サブユニットとして腎臓から排泄されることによって血流から消失する(2)。

ASGP 受容体とマンノース受容体が、ゴナドトロピンの代謝クリアランスと $t_{1/2}$ を決める重要な役割を果たしている。これら受容体発現の増減は、プロゲステロンの血漿レベルと相関しており、それによって雌の生殖系を機能的に制御している(9)。ゴナドトロピンの糖鎖の末端へのシアル酸付加により、肝臓による速やかな分子捕捉が妨げられる。最初に血清酵素によって糖鎖が脱グリコシル化され、肝臓から消失されやすくなると考えられる。さらに、ノイラミン酸が多く高電荷を持つ分子は、全身循環に長く留まるため、限外濾過により腎臓から排泄されやすいと推測される。van Schanke らは、CHO 由来ゴナドトロピンが広範囲にグリコシル化されると半減期が長くなると考えている(1)。ただし、血清ノイラミニダーゼレベルの調節によるゴナドトロピン消失が制御されるかは確認できていない(10)。

ゴナドトロピンのイソホルモンが持っている構造的多様性は、個々のアイソフォームの生物活性と半減期に影響を与える(11) (17)。グリコシル化の構造、酵素の存在、及び肝臓受容体の数を調節している上記のすべての要因に基づいて、排泄のすべての過程は、糖鎖構造の異化代謝と肝臓の受容体数のバ

ランスによって経時的に変化する可能性がある。一方、腎臓における限外濾過能はほぼ一定していることが示唆された。

以上、主にゴナドトロピンの糖鎖修飾が、分子の消失速度を調節している(12)。ゴナドトロピンの別の器官・組織への分布は、主に性腺に限られる。

2.6.4.10　図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.4.11　参考文献

(1) van Schanke A, van de Wetering-Krebbers SF, Bos E, Sloot WN. Absorption, distribution, metabolism and excretion of corifollitropin alfa, a recombinant hormone with a sustained follicle-stimulating activity. Pharmacology. 2010;85(2):77-87.

(2) Ulloa-Aguirre A, Timossi C. Biochemical and functional aspects of gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins. Reprod Biomed Online. 2000;1(2):48-62.

(3) Park EI, Baenziger JU. Closely related mammals have distinct asialoglycoprotein receptor carbohydrate specificities. J Biol Chem 2004 Sep 24,279(39), 40954-59.

(4) Ashwell G, Harford J. Carbohydrate-specific receptors of the liver. Ann Rev Biochem 1982; 51: 531-54.

(5) Steirer LM, Park EI, Townsend RR, Baenziger JU. The asialoglycoprotein receptor regulates levels of plasma glycoproteins terminating with sialic acid α2,6-galactose. J Biol Chem 2009 Feb 6,284(6), 3777-83.

(6) Ishibashi S, Hammer RE, Herz J. Asialoglycoprotein receptor deficiency in mice lacking the minor receptor subunit. J Biol Chem 1994 Nov 11; 269(45): 27803-6.

(7) Moyle W, Campbell R. Gonadotropins. In DeGroot L, ed. Endocrinology. 3 ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1995, 230-41.

(8) Olsson H, Sandstrom R, Grundemar L. Different pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) derived from a human cell line compared with rFSH from a non-human cell line. J Clin Pharmacol 2014 Nov, 54 (11), 1299-307.

(9) Mi Y, Lin A, Fiete D, Steirer L, Baenziger JU. Modulation of mannose and asialoglycoprotein receptor expression determines glycoprotein hormone half-life at critical points in the reproductive cycle. J Biol Chem 2014 Apr 25,289(17), 12157-67.

(10) Merat A, R.Arabsolghar, J.Zamani, M.H.Roozitalab. Serum Levels of SIalic Acid and Neuraminidase Activity in Cardiovascular, Diabetic and Diabetic Retinopathy Patients. IJMS 2003 Sep,28(3), 123-6.

(11) Creus S, Chaia Z, Pellizzari EH, Cigorraga SB, Ulloa-Aguirre A, Campo S. Human FSH isoforms: carbohydrate complexity as determinant of in-vitro bioactivity. Mol Cell Endocrinol 2001 Mar 28,174(1-2), 41-9.

(12) Mullen M, Cooke D, Crow M. Structural and Functional Roles of FSH and LH as Glycoproteins Regulating Reproduction in Mammalian Species. In Vizcarra Jorge, ed. Gonadotropin. Intech open science, 2013, 155-80.

(13) Porchet HC, le Cotonnec JY, Canali S, Zanolo G. Pharmacokinetics of recombinant human follicle stimulating hormone after intravenous, intramuscular, and subcutaneous administration in monkeys, and comparison with intravenous administration of urinary follicle stimulating hormone. Drug Metab Dispos 1993 Jan,21(1), 144-50.

(14) de Leeuw R., Mulders J, Voortman G, Rombout F, Damm J, Kloosterboer L. Structure-function relationship of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon®). Mol Hum Reprod 1996 May;2(5), 361-9.

(15) Park EI, Manzella SM, Baenziger JU. Rapid clearance of sialylated glycoproteins by the asialoglycoprotein receptor. J Biol Chem 2003 Feb 14,278(7):4597-602.

(16) Park EI, Mi Y, Unverzagt C, Gabius HJ, Baenziger JU. The asialoglycoprotein receptor clears glycoconjugates terminating with sialic acid alpha 2,6GalNAc. Proc Natl Acad Sci USA 2005 Nov 22,102(47), 17125-9.

(17) Poulin P. A single-species approach considering additional physiological information for prediction of hepatic clearance of glycoprotein derivate therapeutics. Clin Pharmacokinet. 2011 Oct;50(10):665-74.

2.6.5 薬物動態試験概要表

目次

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 5

2.6.5.2.1 Validation of an immninoassay method for measurement of rFSH in serum 5

2.6.5.2.2 Validation of an immunoassay method for the measurement of anti-rFSH antibodies in serum 6

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 7

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 8

2.6.5.5 薬物動態試験：分布 9

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 10

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 11

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 12

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝　*In Vivo* 13

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝　*In Vitro* 14

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 15

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 16

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 17

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 18

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 19

2.6.5.16 薬物動態試験：その他 20

2.6.5.16.1 Type of Study: Pharmacokinetic comparison of FE 999049 and GONAL-F [4.2.2.7-2] 20

2.6.5.16.2 Type of Study: Comparison of pharmacokinetic profiles in rats of FE 999049 and GONAL-F injected intravenously with asialofetuin [4.2.2.7-1] 21

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location	Dose Levels (IU/kg)	Dose Levels (µg/kg)
Analytical Methods and Validation							
Validation of an immunoassay method for measurement of rFSH in rat serum	Rat serum	Not applicable	[redacted]	FRG0101	[4.2.2.1-1]	Not applicable	Not applicable
Validation of an immunoassay method for measurement of rFSH in monkey serum	Monkey serum	Not applicable	[redacted]	FRG0099	[4.2.2.1-2]	Not applicable	Not applicable
Validation of an immunoassay method for the measurement of anti-rFSH antibodies in rat serum	Rat serum	Not applicable	[redacted]	FRG0103	[4.2.2.1-3]	Not applicable	Not applicable
Validation of an immunoassay method for the measurement of anti-rFSH antibodies in monkey serum	Monkey serum	Not applicable	[redacted]	FRG0117	[4.2.2.1-4]	Not applicable	Not applicable
Absorption							
Pharmacokinetics of a recombinant human follicle stimulating hormone (rhFSH) preparation in adult female rats after intravenous bolus administration	Female rats / Sprague Dawley	Intravenous injection	Ferring Research Institute, San Diego, CA, USA	FE 999049 DS APK 13 01	[4.2.2.2-1]	Not applicable	10.9-11.3
14 day subcutaneous dose range finding study in the rat	Male and female rats / Crl:WI(Han)	Subcutaneous injection	[redacted]	ADR0055	[4.2.3.2-1]	0, 20, 200, 2000	0, 1.45, 14.5, 145 [a]
Four week subcutaneous toxicity study in the rat with a four week treatment-free period	Male and female rats / Crl:WI(Han)	Subcutaneous injection	[redacted]	ADR0060	[4.2.3.2-2]	0, 20, 140, 1000	0, 1.04, 7.31, 52.2[b]
FE 999049 Maxinum tolerated dose study with subcutaneous administration in the cynomolgus monkey	Cynomolgus monkeys	Subcutaneous injection	[redacted]	1475-099	[4.2.3.2-3]	(MTD single dose) 500, 1000, 2000, 4000 (Fixed dose 7 days) 4000	(MTD single dose) 36.3, 72.5, 145, 290 (Fixed dose 7 days) 290 [a]
FE 999049 4 week subcutaneous administration in the cynomolgus monkey with a 4 week treatment free period	Cynomolgus monkeys	Subcutaneous injection	[redacted]	1475-101	[4.2.3.2-4]	0, 10, 100, 1000	0, 0.522, 5.22, 52.2[b]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location	Dose Levels (IU/kg)	Dose Levels (µg/kg)
Distribution	No distribution studies have been performed with FE 999049						
Metabolism	No metabolism studies have been performed with FE 999049						
Excretion	No excretion studies have been performed with FE 999049						
Pharmacokinetic Drug Interactions	No pharmacokinetic drug interaction studies have been performed with FE 999049						
Other							
Pharmacokinetic comparison of FE 999049 and GONAL-F	C57B1/6J mice and B6; 129S7-Asgr2^{tm1Her}/J mice (asialo-glycoprotein receptor knock-out mice)	Subcutaneous injection	[redacted], Israel	[redacted]-REP-007959	[4.2.2.7-2]	Not applicable	3 µg/head
Comparison of pharmacokinetic profiles in rats of FE 999049 and GONAL-F injected intravenously with asialofetuin	Male rats / Sprague-Dawley	Intravenous injection	[redacted], Israel	[redacted]-REP-007966	[4.2.2.7-1]	Not applicable	2 µg/head

[a] Conversion factor = 0.0725 µg/IU. [b] Conversion factor = 0.0522 µg/IU.

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1　Validation of an immninoassay method for measurement of rFSH in serum　**Study No.:** FRG0101, FRG0099

Testing Facility	[redacted]	[redacted]
Matrix	Rat Serum	Monkey Serum
Lower Limit of Quantification	13.8 mIU/mL (1.00 ng/mL)	13.8 mIU/mL (1.00 ng/mL)
Upper Limit of Quantification	460 mIU/mL (33.4 ng/mL)	460 mIU/mL (33.4 ng/mL)
Calibration Curve Range	9.19 mIU/mL (0.667 ng/mL) to 588 mIU/mL (42.7 ng/mL)	9.19 mIU/mL (0.667 ng/mL) to 588 mIU/mL (42.7 ng/mL)
QC Levels (ng/mL) **Intra-assay Precision [CV (%)]** **Intra-assay Accuracy [RE (%)]** **Inter-assay Precision [CV (%)]** **Inter-assay Accuracy [RE (%)]**	1.00, 2.00, 6.67, 20.0, 26.6, 33.4 4.6% to 7.5% -27.0% to -2.6% 5.0% to 13.5% -10.7% to 4.0%	1.00, 2.00, 6.67, 20.0, 26.6, 33.4 4.2% to 9.8% -7.3% to -21.5% 6.6% to 9.5% -5.0% to 8.2%
Mean Recovery (%)	96.8	75.4
Stability in Serum	Up to 2 hours at room temperature, Up to 6 months at -20°C, Through 3 freeze thaw cycles	Up to 2 hours at room temperature, Up to 6 months at -20°C, Through 3 freeze thaw cycles
Study No.	FRG0101	FRG0099
Location	[4.2.2.1-1]	[4.2.2.1-2]
CV = coefficient of variation; RE = relative error		

2.6.5.2.2 Validation of an immunoassay method for the measurement of anti-rFSH antibodies in serum **Study No.:** FRG0103, FRG0117

Testing Facility	[redacted]	[redacted]
Matrix	Rat Serum	Monkey Serum
Lower Limit of Quantification (µg/mL)	2.00 µg/mL	2.00 µg/mL
Upper Limit of Quantification (µg/mL)	80.0 µg/mL	80.0 µg/mL
Calibration Curve Range	0.781 µg/mL to 100 µg/mL	1.56 µg/mL to 100 µg/mL
QC Levels 1 (µg/mL) **Intra-assay 1 Precision [CV(%)]** **Intra-assay 1 Accuracy [RE(%)]**	1.00, 2.00, 8.00, 40.0, 80.0 1.9% to 5.4% -19.1% to 16.3%	1.00, 2.00, 8.00, 40.0, 80.0 2.3% to 23.2% -19.4% to12.2%
QC Levels 2 (µg/mL) **Intra-assay 2 Precision [CV(%)]** **Intra-assay 2 Accuracy [RE(%)]**	2.00, 8.00, 40.0 1.0% to 5.6% -7.6% to 4.5%	2.00, 8.00, 40.0 2.1% to 3.2% -5.9% to 16.6%
QC Levels 3 (µg/mL) **Intra-assay 3 Precision [CV(%)]** **Intra-assay 3 Accuracy [RE(%)]**	2.00, 8.00, 40.0 2.3% to 8.8% -8.0% to 2.3%	2.00, 8.00, 40.0 4.9% to 6.4% -14.4% to -3.4%
QC Levels (µg/mL) **Inter-assay Precision [CV(%)]** **Inter-assay Accuracy [RE(%)]**	1.00, 2.00, 8.00, 40.0, 80.0 3.0% to 8.4% -15.5 to 20.3%	1.00, 2.00, 4.00, 8.00, 40.0, 80.0 6.5% to 29.3% -11.1 to 22.8%
Mean Recovery (%)	85.9	94.8
Stability in Serum	Up to 4 hours at room temperature, Up to 6 months at-20℃	Up to 4 hours at room temperature, Up to 6 months for Mid and High QC sample at-20℃
Cut-point for confirmatory assay	30% signal reduction	30% signal reduction
Study No.	FRG0103	FRG0177
Location	[4.2.2.1-3]	[4.2.2.1-4]

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与

Study No.: FE 999049 DS APK 13 01	**Location:** [4.2.2.2-1]	**Test Article: FE 999049**
Species	Rat	
Number of Animals/Gender (M/F)	3 F	
Feeding Condition	Unknown	
Vehicle/Formulation	PBS + 0.1% BSA	
Method of Administration	Intravenous injection	
Dose (µg/kg)	10.9-11.3	
Sample	Serum	
Analyte	FE 999049	
Assay	Solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).	
PK Parameters, mean ± standard deviation:		
V_c (mL/kg)	40 ± 3	
V_{ss} (mL/kg)	82 ± 9	
$t_{½}$ (elimination, hours)	9.4 ± 0.3	
CL (mL/h/kg)	11.3 ± 0.6	

Additional Information: Recombinant human FSH (FE 999049, Batch No: 2192-010-QS MP) demonstrated an elimination half-life of 9.4 hours and a clearance of 11.3 mL/h/kg following intravenous bolus administration in adult female rats.

2.6.5.4　　薬物動態試験：吸収：反復投与

毒性試験概要表　トキシコキネティクス Module 2.6.7.3 参照

2.6.5.5　　薬物動態試験：分布

該当する試験なし

2.6.5.6　　薬物動態試験：たん白結合

該当する試験なし

2.6.5.7　　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験なし

2.6.5.8　　薬物動態試験：その他の分布試験

該当する試験なし

2.6.5.9　　薬物動態試験：代謝　*In Vivo*

該当する試験なし

2.6.5.10　　薬物動態試験：代謝　*In Vitro*

該当する試験なし

2.6.5.11　　薬物動態試験：推定代謝経路

該当する試験なし

2.6.5.12　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当する試験なし

2.6.5.13　　薬物動態試験：排泄

該当する試験なし

2.6.5.14　　薬物動態試験：胆汁中排泄

該当する試験なし

2.6.5.15　　薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験なし

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1　Type of Study: Pharmacokinetic comparison of FE 999049 and GONAL-F [4.2.2.7-2]

Test Article: FE 999049

Method: The pharmacokinetics of FE 999049 and GONAL-F was compared after subcutaneous injection to wild type (C57B1/6J**)** and asialo-glycoprotein receptor knock-out (B6; 129S7-Asgr2^{tm1Her}/J**)** mice.

Tabulated results: AUC and %AUC for GONAL-F and two batches of FE 999049 in ASGP-R in wild type mice

Sample	GONAL-F	rFSH CE0041	rFSH F10426
AUC_{0-t} (µg·h/mL)*	3.80	3.50	3.50
% AUC	100.00	92.00	92.00
$t_{1/2}$ (h)	7.46	9.45	8.10

*calculated by the "PK Solutions 2.0" software

Tabulated results: AUC and %AUC for GONAL-F and two batches of FE 999049 in ASGP-R knock out mice

Sample	GONAL-F	rFSH CE0041	rFSH F10426
AUC_{0-t} (µg·h/mL)*	3.50	4.90	4.30
% AUC	100.00	140.00	123.00
$t_{1/2}$ (h)	7.54	8.58	7.18

*calculated by the "PK Solutions 2.0" software

Additional information: Exposure in terms of AUC_{0-t} was equal, when wild type mice were treated with FE 999049 (92%) and GONAL-F (100%) at 3 µg/head by subcutaneous administration (data not shown). When homozygous asialoglycoprotein receptor knockout mice were treated in the same way, exposure was significantly higher in FE 999049 treated mice: GONAL-F = 100%; 2 batches of FE 999049 = 140% and 123%.

2.6.5.16.2 Type of Study: Comparison of pharmacokinetic profiles in rats of FE 999049 and GONAL-F injected intravenously with asialofetuin [4.2.2.7-1]

Test Article: FE 999049

Method: Excess of asialofetuin blocks rat liver clearance of glycoproteins containing terminal galactose residues by competition at the asialoglycoprotein receptor. Concentration/time plots of FE 999049 (CE0041, 2 μg/head) following intravenous co-injection with asialofetuin (10.8 mg/head) to rats showed significantly higher exposures relative to FE 999049 administered intravenously without asialofetuin. In contrast, similar treatment of rats with GONAL-F (2 μg/head) gave similar results in the presence and absence of asiolofetuin.

Tabulated results: AUC and %AUC for GONAL-F and two batches of FE 999049 in rats

rFSH Product	Serum FSH concentration (ng/mL)				AUC_{0-t} (ng·h/mL)	%AUC	Elimination half-life (h)
	0.25 h	1 h	2 h	4 h			
FE 999049	254±24.0	104±5.7	92±4.2	44±0.0	400	100	1.9
FE 999049 +ASF	318±21.2	179±20.5	129±21.2	57.5±13.4	566.6	141.6	1.7
Gonal f®	180±33.2	95.5±9.2	70.5±4.9	34±8.5	313.4	100	1.9
Gonal f®+ASF	207±22.6	89±7.1	67.5±2.1	32±2.8	314.6	100.4	1.9

ASF = asialofetuin