TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
LIST OF FIGURES 1
本項で使用する用語・略語 2
1. まとめ 3
2. 分析法 3
2.1. サル血清中 hATG 濃度の測定 3
2.2. サル血清中および乳汁中の hATG 濃度の測定 4
2.3. サル血清中抗薬物抗体（ADA）濃度の測定 4
3. 吸収 4
4. 分布 5
4.1. サルを用いた hATG の単回静脈内投与後の乳汁中分泌試験 5
5. 代謝（動物種間の比較） 6
6. 排泄 6
7. 薬物動態学的薬物相互作用 6
8. その他の薬物動態試験 6
8.1. トキシコキネティクス 6
9. 考察及び結論 11
10. 図表 11
参考文献 12

LIST OF TABLES

Table 1. hATG を授乳期サルに単回静脈内投与した際の薬物動態パラメータ 6
Table 2. サル 14 日間静脈内投与毒性試験における試験 1 日の AUC_{24} 9

LIST OF FIGURES

Figure 1. hATG を授乳期サルに単回静脈内投与した際の血清中 hATG 濃度推移 5
Figure 2. サル 14 日間静脈内投与毒性試験における試験 1 日の血清中 hATG 濃度推移 8
Figure 3. サル 14 日間静脈内投与毒性試験における投与直前の血清中 hATG 濃度推移 10

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
ADA	Anti drug antibody：抗薬物抗体
AUC_{24}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity： 0 時間から投与後 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinite time： ゼロから無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法
hATG	Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine) : 抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン
hIgG	Equine immunoglobulin G：ウマ免疫グロブリン G
IgG	Immunoglobulin：免疫グロブリン G
OPD	1,2-phenylenediamine：1,2-フェニレンジアミン
$t_{½}$	Terminal phase half-life：消失半減期
TMB	3,3’,5,5’-Tetramethylbenzidine：3,3’ ,5,5’ -テトラメチルベンジジン

1. まとめ

抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン（以下，hATG）は，旧米国アップジョン社（現ファイザー社）により開発された免疫抑制剤で，米国では 1981 年に承認され，再生不良性貧血および腎移植拒絶反応の治療に用いられている。hATG はヒト胸腺リンパ球で免疫されたウマの過免疫血清を精製，濃縮，滅菌して得られた主に単量体免疫グロブリン G（IgG）からなるガンマグロブリンであり，非臨床試験結果から強力な T 細胞抑制作用を有すると考えられている。

本項に収載する非臨床試験の成績は，海外での豊富な臨床使用実績とともに，中等度以上の再生不良性貧血における hATG の使用を十分に支持するものと考える。hATG は霊長類のリンパ球と最も高い交差反応性を示した（M2.6.6.8.3）ことから，非臨床安全性評価のための非げっ歯類としてサルを選択した。非臨床薬物動態試験では，hATG を授乳期の雌性カニクイザルに単回静脈内投与した際の曝露量および乳汁中排泄を評価した。また，サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）におけるトキシコキネティクスおよび抗薬物抗体（ADA）産生についても評価した。

2. 分析法

2.1. サル血清中 hATG 濃度の測定

報告書番号 7262-[redacted]-003 (7227-[redacted]-035)，概要表 2.6.5.1，2.6.5.2A，2.6.5.2B，2.6.5.3

サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）におけるサル血清中の hATG 濃度の定量には，バリデートされたサンドイッチ法による酵素免疫測定法（ELISA）を用いた。

この定量分析法では，ウサギ抗ウマ免疫グロブリン G（IgG）をマイクロタイタープレート上に固相化し，プラセボ対照（正常ウマ IgG，以降 hIgG）または hATG を投与したサルの血清を添加した後，1 時間インキュベートし，試料中の hATG を捕捉した。洗浄後，西洋ワサビペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗ウマ IgG を添加し，1 時間インキュベートした。洗浄後，ペルオキシダーゼの基質である 1,2-フェニレンジアミン（OPD）を添加し，10 分後に硫酸で反応を停止させた後，比色測定法で 490 nm における吸光度を測定した。試料中の濃度は，4-パラメータロジスティックモデルを用いて作成した検量線から内挿法によって求めた。検出限界は 0.488 µg/mL であり，3.9～62.5 µg/mL の範囲（最初に血漿サンプルを 1:50 の割合で希釈するため，血漿サンプル中の濃度は 195～3125 µg/mL に相当）で直線性を示した。回収率は 92%～102%であり，1:50 で希釈した場合のバックグラウンド値（マトリックス干渉）は，ほぼすべての試料について 1 µg/mL 未満であった。日内変動および日間変動は，それぞれ 12.5 ± 3.8%および 5.1 ± 3.4%であった。hATG は-80℃での保存下において少なくとも 120 日間安定であり，凍結融解を 4 回繰り返しても安定であった。

2.2. サル血清中および乳汁中の hATG 濃度の測定

報告書番号 1470-[redacted]-028，概要表 2.6.5.1，2.6.5.2A，2.6.5.2B，2.6.5.3

サルを用いた hATG の単回静脈内投与後の乳汁中分泌試験（M2.6.4.4）におけるサル血清中または乳汁中の hATG 濃度の定量には, バリデートされたサンドイッチ法による ELISA 法を用いた。

この定量分析法では，ヤギ抗ウマ IgG をマイクロタイタープレート上に固相化し，サルの血清または乳汁を添加して 1 時間インキュベートし，試料中の hATG を捕捉した。洗浄後，西洋ワサビペルオキシダーゼ標識抗ヤギ抗ウマ IgG を添加し，1 時間インキュベートした。洗浄後，ペルオキシダーゼの基質である 3,3’ ,5,5’ -テトラメチルベンジジン（TMB）を添加し，20 分後に硫酸で反応を停止させ，比色測定法で 450 nm における吸光度を測定した。試料中の濃度は，検量線（各濃度 n=2 の平均吸光度により作成）から内挿法によって求めた値に希釈係数を乗じて算出した。サル血清および乳汁の両マトリクスにおいて定量範囲はいずれも 10～120 µg/mL の範囲であった。QC 試料測定時の真度および精度は，いずれも± 15%の範囲内であった。

2.3. サル血清中抗薬物抗体（ADA）濃度の測定

報告書番号 7262-[redacted]-002 (7227-[redacted]-035)，概要表 2.6.5.1，2.6.5.2A，2.6.5.2B，2.6.5.3

サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）におけるサル血清中 ADA の定量には，サル血清中のウマ IgG に対するサル抗ウマ IgG 抗体（IgG）を検出するバリデートされたサンドイッチ法による ELISA 法を用いた。

この定量分析では，hATG をマイクロタイタープレート上に固相化し，プラセボ対照（hIgG）または hATG を投与したサルの血清を希釈 (1:50) したものをプレートに添加して, 90 分間インキュベートし，試料中の ADA を捕捉した。洗浄後，西洋ワサビペルオキシダーゼ標識抗ヤギ抗サル IgG を添加し，90 分間インキュベートした。洗浄後，ペルオキシダーゼの基質である OPD および過酸化水素を添加し，15 分後に硫酸で反応を停止させ，比色測定法で 490 nm における吸光度を測定した。この分析法では，カットオフ値（対照血清の平均値＋標準偏差の 4 倍）を用いて ADA 陽性試料と ADA 陰性試料とを識別した。日内変動および日間変動は，いずれも 20%未満であった。固相化したマイクロタイタープレートは 4℃において少なくとも 8 日間安定で，少なくとも 4 回までのサンプルの凍結融解安定性が確認された。

3. 吸収

hATG の非臨床における吸収試験は実施していない。hATG の投与経路は静脈内投与のみであり，100 %の吸収が想定される。

4. 分布

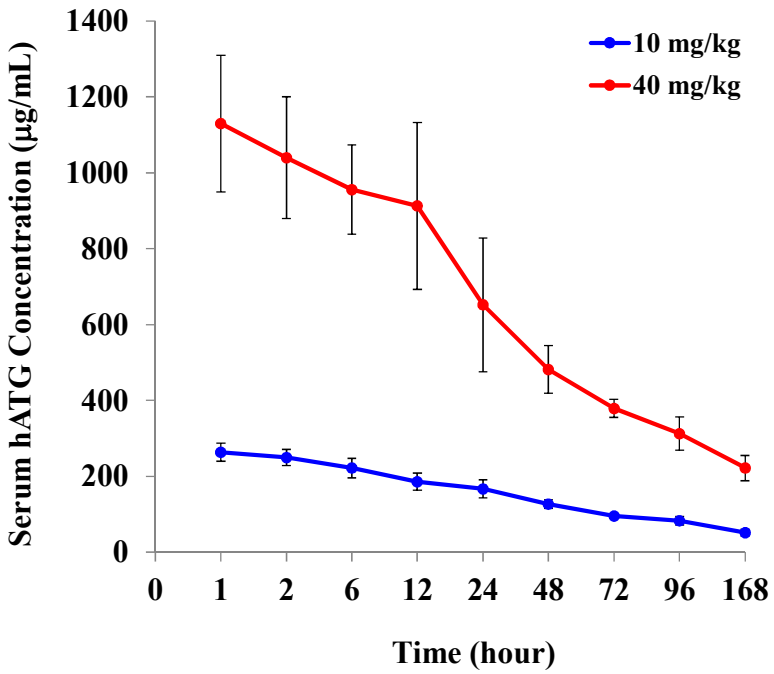
全身分布を検討した非臨床試験は実施していないが，細胞表面抗原への結合試験（M2.6.2.2.1）の結果から，hATG は広く体内に分布することが示唆されている。

4.1. サルを用いた hATG の単回静脈内投与後の乳汁中分泌試験

報告書番号 1470-[redacted]-028，概要表 2.6.5.7

授乳期のカニクイザルにおける hATG の静脈内投与後の乳汁中への分布を評価した。授乳期サル（雌 4 匹/群）に 10 mg/kg または 40 mg/kg の hATG を投与容積 3.2 mL/kg および投与速度 0.8 mL/min でインフュージョンポンプを用いて単回静脈内投与した。防腐剤として 0.01%チメロサールを含有する薬剤ロットを使用した。投与前および投与後 168 時間まで血清および乳汁を採取し，サンプル中 hATG 濃度をバリデートした ELISA 法にて測定した（M2.6.4.2.2）。Figure 1 に hATG の血中濃度時間推移および Table 1 に薬物動態パラメータを示した。hATG 濃度と AUC_{inf} は 10 mg/kg から 40 mg/kg の用量に比例して増加した。半減期（$t_{½}$），全身クリアランス（CL）および定常状態分布容積（V_{ss}）はいずれの用量においても同様であった。いずれのサンプリング時間においても，乳汁中の hATG 濃度は定量限界（10 µg/mL）未満であった。これらのことから，hATG は乳汁中へ分布してもごくわずかであることが示唆された。

Figure 1.　hATG を授乳期サルに単回静脈内投与した際の血清中 hATG 濃度推移



報告書番号 1470-[redacted]-028

平均値 ± 標準偏差（N=4）

Table 1.　hATGを授乳期サルに単回静脈内投与した際の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	用量 [a]	
	10 mg/kg	40 mg/kg
AUC_{inf} (mg•hr/mL)	25.4 ± 4.0	110 ± 16
$t_{½}$ (時間)	97.9 ± 16.5	115 ± 25
$t_{½}$ (日)	4.1 ± 0.68	4.8 ± 1.04
CL (mL/hr/kg)	0.401 ± 0.056	0.370 ± 0.054
V_{ss} (mL/kg)	53.1 ± 5.2	56.9 ± 11.6

報告書番号 1470-[redacted]-028
a: 平均値 ± 標準偏差（N = 4）

5. 代謝（動物種間の比較）

「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価［ICH-S6(R1)］」[1]の考え方に基づき，hATG を用いた代謝試験は実施していない。hATG の代謝は他の免疫グロブリンと同様であると推測される[2]。

6. 排泄

hATG を用いた排泄試験は実施していない。hATG は他の免疫グロブリンと同様に代謝，排泄されると考えられている [2,3]。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

hATG を用いた薬物動態学的相互作用試験は実施していない。hATG はリンパ球表面の多様なタンパク質に結合する様々な抗体で構成される。抗体医薬品の主な消失経路は，タンパク質の分解異化および受容体を介した消失と考えられることから，他の治療薬との薬物動態学的相互作用の可能性は低いと考えられる（M2.5.5.7.3）。

8. その他の薬物動態試験

8.1. トキシコキネティクス

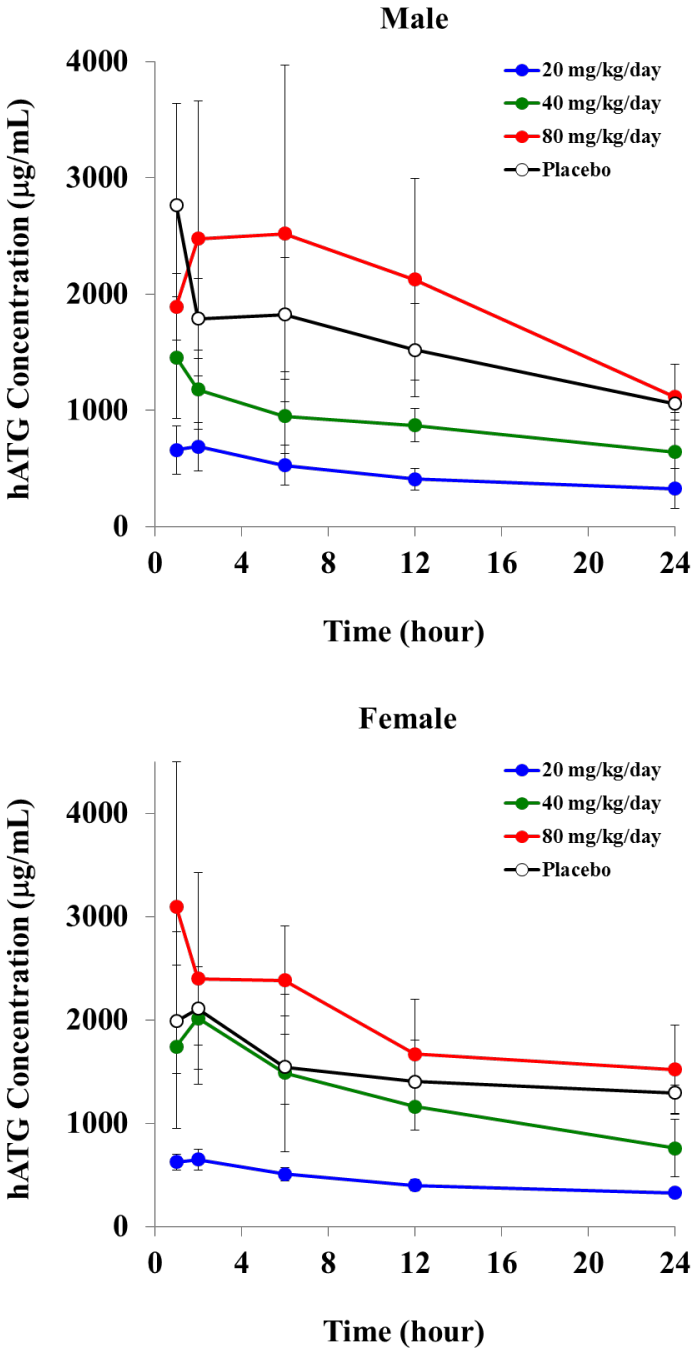
報告書番号 7227-[redacted]-035，概要表 2.6.5.16

サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）において，血清中 hATG 濃度を測定した。プラセボ対照群（ウマ IgG 80 mg/kg/日）または hATG（防腐剤として 0.01%チメロサールを含有）を 0（溶媒対照：0.45%塩化ナトリウム），20, 40 および 80 mg/kg/日で 1 日 1 回 14 日間静脈内投与した。試験 1 日の投与 1，2，6，12 および 24 時間後，ならびに試験 5，8，11，15，18，21 および 28 日の投与直前に採血し，hATG 濃度および ADA 濃度を測定した。一部の試料で予期せぬ凍結による沈殿が認められたことから，薬物動態の傾向を把握す

ることのみが可能であった。試験 1 日における血清中 hATG 濃度推移を Figure 2 に示す。雌雄における AUC_{24} は類似しており，AUC_{24} は概ね用量に比例して増加した（Table 2）。血中濃度は試験 5 日までに定常状態に達した（Figure 3）。投与直前における血清中 hATG 濃度は，試験 11 日まで用量依存的な推移を示したが，以降，20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日において顕著な血清中濃度の低下が認められた。しかしながら，80 mg/kg/日では投与直前における血清中濃度の低下はみられなかった。消失相における血清中 hATG 濃度の $t_{½}$（平均値±標準偏差）は，80 mg/kg/日の雌で 2.6 ± 1.1 日であった。他の hATG 投与群では試験 18，21 および 28 日における血清中 hATG 濃度が定量限界未満であったため，パラメータ算出に必要な十分なデータが得られず $t_{½}$は算出できなかった。

溶媒対照群および 80 mg/kg/日の雄 1 例を除き，すべての動物で ADA 産生が認められ，ほとんどの動物で試験 11 日までに ADA が確認された。20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日における ADA 濃度は 80 mg/kg/日における ADA 濃度よりも高く，20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日で試験 11 日以降に認められた血中 hATG 濃度低下の原因であると考えられた。

Figure 2.　サル 14 日間静脈内投与毒性試験における試験 1 日の血清中 hATG 濃度推移



報告書番号 7227-[redacted]-035

平均値 ± 標準偏差（N=6），Placebo=ウマ IgG（80 mg/kg/日）

Table 2.　サル 14 日間静脈内投与毒性試験における試験 1 日の AUC_{24}

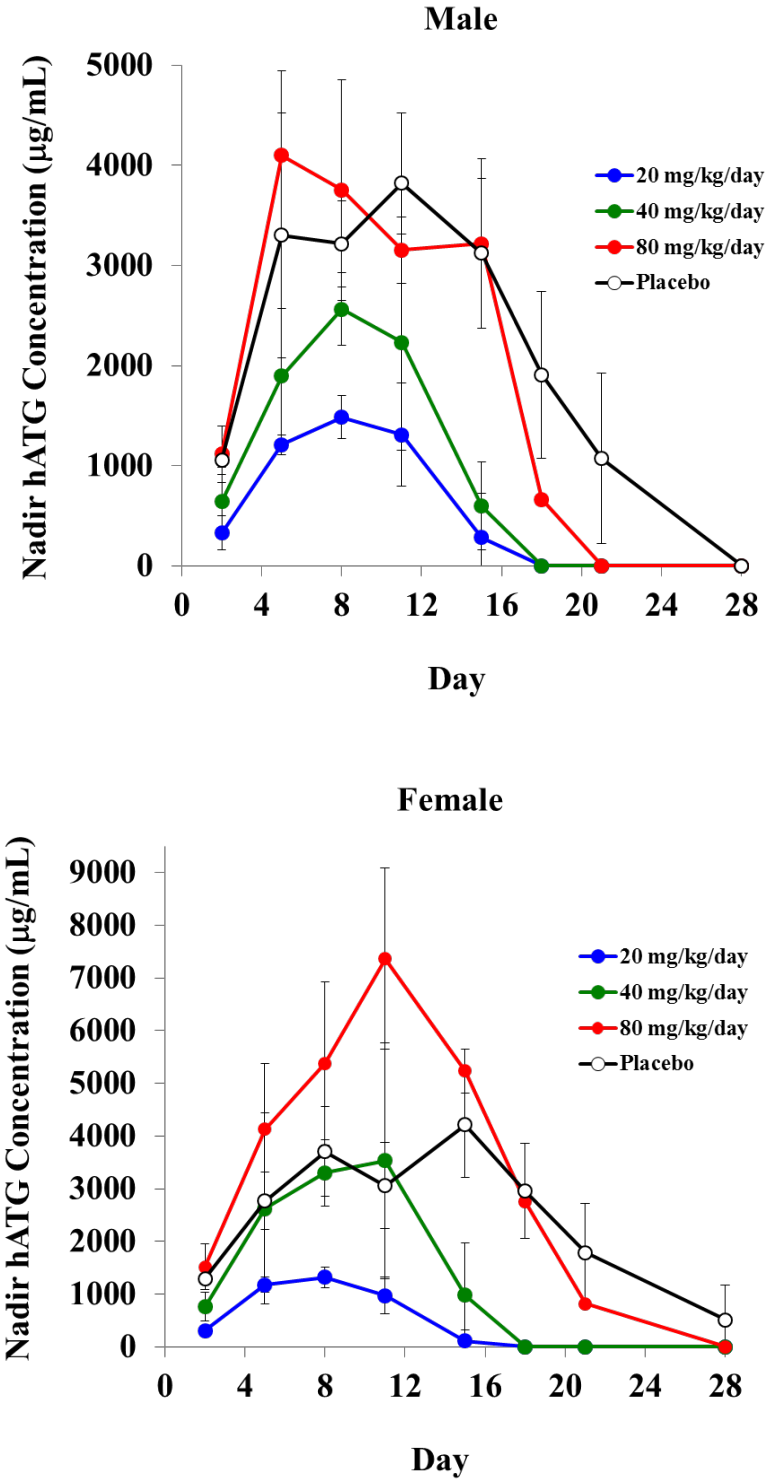
	AUC_{24} (μg•h/mL)[a]			
性別	hATG			プラセボ対照 [b]
	20 mg/kg/日	40 mg/kg/日	80 mg/kg/日	80 mg/kg/日
雄	10500 ± 3850	20970 ± 4060	43520 ± 15250	36620 ± 5510
雌	10280 ± 820	29260 ± 6930	45410 ± 9330	35530 ± 5360

報告書番号 7227-[redacted]-035

a. 平均値 ± 標準偏差（N = 5～6）

b. ウマ IgG

Figure 3.　サル 14 日間静脈内投与毒性試験における投与直前の血清中 hATG 濃度推移



報告書番号 7227-[redacted]-035

平均値 ± 標準偏差（N=3～6），Placebo=ウマ IgG（80 mg/kg/日）

9. 考察及び結論

本項に収載する非臨床試験の成績は，海外での豊富な臨床使用実績とともに，中等度以上の再生不良性貧血における hATG の使用を十分に支持するものと考える。hATG は霊長類のリンパ球と最も高い交差反応性を示した（M2.6.6.8.3）ことから，非臨床安全性評価のための非げっ歯類としてサルを選択した。非臨床薬物動態試験では，hATG を授乳期の雌性カニクイザルに単回静脈内投与した際の曝露量および乳汁中排泄を評価した。また，サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）におけるトキシコキネティクスおよび ADA 産生についても評価した。

hATG の非臨床における吸収試験は実施していないが，hATG の投与経路は静脈内投与のみであり，100 %の吸収が想定される。

細胞表面抗原への結合試験（M2.6.2.2.1）の結果から，hATG は広く体内に分布することが示唆されている。授乳期サルの乳汁中 hATG 濃度は定量限界未満であり，hATG は乳汁中へほとんど移行しないことが示唆された。

hATG を用いた代謝および排泄試験は実施していない。hATG の代謝および排泄は他の免疫グロブリンと同様であると考えられている [2,3]。

hATG を用いた薬物動態学的相互作用試験は実施していない。hATG はリンパ球表面の多様なタンパク質に結合する様々な抗体で構成される。抗体医薬品の主な消失経路は，タンパク質の分解異化および受容体を介した消失と考えられることから，他の治療薬との薬物動態学的相互作用の可能性は低いと考えられる（M2.5.5.7.3）。

サルを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験（28 日間回復性試験を含む）（M2.6.6.3.2）のトキシコキネティクスにおいて，試験 1 日おける AUC_{24} は概ね用量に比例して増加した。投与直前における血清中 hATG 濃度は，試験 11 日まで用量依存的に維持されたが，その後，20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日において顕著な血清中濃度の低下が認められた。しかしながら，80 mg/kg/日では投与直前における血清中濃度の低下はみられなかった。一方，溶媒対照群および 80 mg/kg/日の雄 1 例を除き，全ての動物で ADA 産生が認められ，ほとんどの動物で投与 11 日までに ADA が確認された。20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日の ADA 濃度は，80 mg/kg/日よりも高く，20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日で投与 11 日以降に認められた血清中 hATG 濃度低下の原因であると考えられた。サル血清中での本剤の $t_{½}$ は 2.6 日から 4.8 日で，ヒトの $t_{½}$（5.7 日）（M2.7.2.2.2.3）とおおむね一致した。

10. 図表

本文中の該当箇所に記載した。

参考文献

[1] バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価（薬食審査発 0323 第 1 号　平成 24 年 3 月 23 日）

[2] Waldmann TA, Strober W. Metabolism of immunoglobulins. Prog Allergy 1969;13:1-110.

[3] Covell DG, Barbet J, Holton OD, et al. Pharmacokinetics of monoclonal immunoglobulin G1, F(ab')2, and Fab' in mice. Cancer Res 1986;46(8):3969-78.

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW 2
2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL 3
2.6.5.2B ANALYTICAL METHODS AND VALIDATION REPORTS 4
2.6.5.3 OVERALL SUMMARY OF NON-CLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS 6
2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT OR NURSING ANIMALS 7
2.6.5.16 PHARMACOKINETICS: OTHER 8

2.6.5.1 Pharmacokinetics Overview

Test Article: hATG

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Analytical Method and Validation				
	Monkey serum	NA	The Upjohn Company[a]	7262-[redacted]-003 (Appendix in 7227-[redacted]-035)
	Monkey serum (anti-horse IgG antibody)	NA	The Upjohn Company[a]	7262-[redacted]-002 (Appendix in 7227-[redacted]-035)
	Monkey serum	NA	[redacted][b]	1470-[redacted]-028
	Monkey milk	NA	[redacted][b]	1470-[redacted]-028
Absorption and Pharmacokinetics				
None				
Distribution				
Single-dose intravenous study in lactating monkeys	Monkey serum, milk	Intravenous	[redacted][b]	1470-[redacted]-028
Metabolism				
None				
Excretion				
None				
Pharmacokinetic Drug Interactions				
None				
Other Pharmacokinetic Studies				
14-Day intravenous toxicity study with toxicokinetics	Monkey serum	Intravenous	The Upjohn Company[a]	UPL Interoffice Memorandum [redacted] 19[redacted] (Appendix in 7227-[redacted]-035)

a. [redacted], US.
b. [redacted], Japan.
IgG = Immunoglobulin G; NA = Not applicable; [redacted] = [redacted], Ltd.; UPL = Upjohn Pharmaceutical Limited.

2.6.5.2A Overall Summary of Analytical Method Validation Reports, Nonclinical

Test Article: hATG

Species	Report Number	Report Issue Date	Type of Analytical Method	Matrix/ Anticoagulant	Range (µg/mL)	Comments
			hATG			
Monkey	7262-[redacted]-003 (Appendix in 7227-[redacted]-035)	[redacted]19[redacted]	ELISA	Serum/None	3.9 to 62.5	
Monkey	1470-[redacted]-028	[redacted]19[redacted]	ELISA	Serum/None	10 to 120	None.
Monkey	1470-[redacted]-028	[redacted]19[redacted]	ELISA	Milk/None	10 to 120	None.
			Anti-horse IgG Antibodies			
Monkey	7262-[redacted]-002 (Appendix in 7227-[redacted]-035)	[redacted]19[redacted]	ELISA	Serum/None	NA	None.

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); NA = Not applicable.

2.6.5.2B Analytical Methods and Validation Reports

Test Article: hATG
Report Numbers: 7262-[redacted]-003 (Appendix in 7227-[redacted]-035); 1470-[redacted]-028

Report Number	7262-[redacted]-003 (Appendix in 7227-[redacted]-035)	1470-[redacted]-028	1470-[redacted]-028
Species:	Monkey	Monkey	Monkey
Analyte:	hATG	hATG	hATG
Sample:	Serum	Serum	Milk
Method:	ELISA	ELISA	ELISA
Range of Determination (LLOQ-ULOQ):	3.9 – 62.5 µg/mL in an initial 1:50 dilution of serum, corresponding to 195 – 3125 µg/mL in undiluted serum	10 – 120 µg/mL in a final 1:600 dilution of serum	10 – 120 µg/mL in a final 1:600 dilution of milk
Inaccuracy (%RE): Low (conc)	0.5 (3.9 µg/ml)	0 (10.3 µg/mL)	0.5 (10.2 µg/mL)
Low-Medium (conc)	12.4 (7.8 µg/mL)	NA	NA
Medium (conc)	5.5 (15.6 µg/mL)	3.6 (61.9 µg/mL)	-5.2 (56.6 µg/mL)
Medium-High (conc)	-6.6 (31.3 µg/mL)	7.2 (109 µg/mL)	-8.6 (92.3 µg/mL)
High (conc)	5.5 (62.5 µg/mL)	-0.6 (119 µg/mL)	-7.2 (110 µg/mL)
Imprecision (%CV): Low (conc)	7.0 (3.9 µg/mL)	11 (10.3 µg/mL)	3.2 (10.2 µg/mL)
Low-Medium (conc)	20.5 (7.8 µg/mL)	NA	NA
Medium (conc)	17.6 (15.6 µg/mL)	5.2 (61.9 µg/mL)	4.8 (56.6 µg/mL)
Medium-High (conc)	15.8 (31.3 µg/mL)	6.9 (109 µg/mL)	6.6 (92.3 µg/mL)
High (conc)	13.5 (62.5 µg/mL)	6.8 (119 µg/mL)	6.1 (110 µg/mL)

Conc = Concentration; %CV = Percent coefficient of variance; ELISA = Enzyme linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); LLOQ = Lower limit of quantitation; NA = Not applicable; %RE = Percent relative error; ULOQ = Upper limit of quantitation.

2.6.5.2.B Analytical Methods and Validation Reports (Continued) Test Article: hATG
Report Number: 7262-[redacted]-002 (Appendix in 7227-[redacted]-035)

Report Number	7262-[redacted]-002 (Appendix in 7227-[redacted]-035)							
Species:	Monkey							
Analyte:	Anti-horse IgG Antibodies							
Sample:	Serum							
Method:	ELISA							
Positive Control	Pooled sera from both strong and weak ADA-positive monkeys from a prior pharmacokinetic study with hATG							
Negative Control	Normal monkey sera							
Positive/Negative Cutoff Criterion	Mean absorbance at 490 nm of normal monkey sera ± 4 SD of the mean (0.115 ± 0.025; N = 39)							
Intraassay Precision	Blank		Negative Control		Weak Positive Control		Strong Positive Control	
	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2	Day 1	Day 2
Absorbance at 490 nm (±SD)	0.100 ± 0.009	0.096 ± 0.009	0.130 ± 0.012	0.119 ± 0.009	0.173 ± 0.017	0.168 ± 0.020	0.785 ± 0.083	0.776 ± 0.090
(%CV)	9.402	9.387	9.373	7.616	10.11	11.92	10.61	11.59
Interassay Precision								
Absorbance at 490 nm (±SD)	0.086 ± 0.006		0.114 ± 0.014		0.158 ± 0.028		0.771 ± 0.097	
(%CV)	6.58		12.40		17.90		12.56	

ADA = Anti-drug antibody; CV = Coefficient of variance; ELISA = Enzyme linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); IgG = Immunoglobulin G; N = Number of samples; SD = Standard deviation.

2.6.5.3 Overall Summary of Non-clinical Pharmacokinetic and Toxicokinetic Studies and Associated Analytical Methods

Test Article: hATG

Study Description Report No.	Analyte	Type of Analytical Method	Matrix/ Anticoagulant	Report Number	Quantitation Range (µg/mL)	Regulatory Status
Monkey						
Single-Dose IV study in lactating animals 1470-[redacted]-028	hATG	ELISA	Serum, milk/None	1470-[redacted]-028	10 – 120	Validated Method
14-Day repeat-dose IV toxicity and toxicokinetic study 7227-[redacted]-035	hATG	ELISA	Serum/None	7262-[redacted]-003 (Appendix in 7227-[redacted]-035)	3.9 – 62.5	Validated Method
14-Day repeat-dose IV toxicity and toxicokinetic study 7227-[redacted]-035	Anti-horse IgG Antibodies	ELISA	Serum/None	7262-[redacted]-002 (Appendix in 7227-[redacted]-035)	NA	Validated Method

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); IgG = Immunoglobulin G; IV = Intravenous; NA = Not applicable.

2.6.5.7 Pharmacokinetics: Study in Pregnant or Nursing Animals

Test Article: hATG
Report Number: 1470-[redacted]-028

Excretion In Milk After a Single Dose to Female Lactating Animals

Species (Strain):	Monkey (cynomolgus)
Number of Animals:	4
Lactating Date:	1 to 2 months postpartum
Feeding Condition:	Food unavailable from 1 hour predose to 3 hours postdose
Vehicle/Formulation:	Saline
Method of Administration:	Intravenous infusion
Dose (mg/kg):	10, 40
Analyte:	hATG
Assay:	ELISA

Time (h)	hATG Concentration (µg/mL) [a]				Milk:Serum Concentration Ratio
	Milk		Serum		
	10 mg/kg	40 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg	
Predose	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
1	BLQ	BLQ	264 ± 24	1130 ± 180	NA
2	BLQ	BLQ	250 ± 21	1040 ± 160	NA
6	BLQ	BLQ	222 ± 26	956 ± 118	NA
12	BLQ	BLQ	186 ± 23	913 ± 220	NA
24	BLQ	BLQ	167 ± 24	652 ± 176	NA
48	BLQ	BLQ	127 ± 11	482 ± 63	NA
72	BLQ	BLQ	95.6 ± 6.3	379 ± 24	NA
96	BLQ	BLQ	83.2 ± 10.9	313 ± 44	NA
168	BLQ	BLQ	51.8 ± 9.4	222 ± 33	NA
Parameter[a]	**Milk**		**Serum**		**Milk:Serum Concentration Ratio**
	10 mg/kg	40 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg	
Mean AUC_{inf} (mg•h/mL)	NC	NC	25.4 ± 4.0	110 ± 16	NA
Half-life (hour)	NC	NC	97.9 ± 16.5	115 ± 25	NA
Clearance (mL/h/kg)	NC	NC	0.401 ± 0.056	0.370 ± 0.054	NA
V_{ss} (mL/kg)	NC	NC	53.1 ± 5.2	56.9 ± 11.6	NA

a. Values are mean ± standard deviation, N = 4.

AUC_{inf} = Area under the concentration- time curve from time 0 to infinity; BLQ = Below the limit of quantitation (<10 µg/mL); ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); h = Hour; NA = Not applicable; NC = Not calculated; V_{ss} = Steady-state volume of distribution.

2.6.5.16 Pharmacokinetics: Other

Test Article: hATG
Report Number: UPL Interoffice Memorandum [redacted] 19[redacted]
(Appendix in 7227-[redacted]-035)

Type of Study:	14-Day repeat-dose toxicity study with toxicokinetics
Species (Strain):	Monkey (cynomolgus)
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	6 male, 6 female
Feeding Condition:	Animals fed ad libitum
Vehicle/Formulation:	Sodium Chloride 0.45% Solution for Injection USP
Method of Administration:	Intravenous infusion
Dose (mg/kg/day):	0, 20, 40, 80
Dosing Interval:	Once daily for 14 days
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Serum
Analyte:	hATG, anti-horse IgG antibodies
Assay:	ELISA

		Day 1 Serum Concentration (µg/mL)[a]			
		hATG			Placebo[b]
Time postdose (hour)	Sex	20 mg/kg/day	40 mg/kg/day	80 mg/kg/day	80 mg/kg/day
1	Male	659.5 ± 208.4	1455 ± 522	1892 ± 286	2767 ± 869
	Female	625.9 ± 76.0	1743 ± 790	3098 ± 1399	1987 ± 503
2	Male	686.9 ± 210.0	1178 ± 342	2477 ± 1181	1789 ± 345
	Female	648.0 ± 101.5	2018 ± 496	2401 ± 1022	2108 ± 348
6	Male	528.4 ± 170.9	950.0 ± 317.8	2521 ± 1450	1823 ± 491
	Female	506.7 ± 61.0	1489 ± 761	2382 ± 527	1545 ± 362
12	Male	409.5 ± 93.2	872.1 ± 145.0	2127 ± 865	1521 ± 401
	Female	401.5 ± 57.8	1163 ± 232	1670 ± 532	1402 ± 216
24	Male	327.5 ± 169.8	641.6 ± 274.6	1115 ± 280	1056 ± 74
	Female	305.7 ± 37.4	760.4 ± 275.9	1520 ± 431	1294 ± 200

2.6.5.16 Pharmacokinetics: Other (Continued)

Test Article: hATG
Report Number: UPL Interoffice Memorandum [redacted] 19[redacted]
(Appendix in 7227-[redacted]-035)

		Immediately before dosing (Nadir) Concentration (µg/mL)[c]			
		hATG			Placebo[b]
Study Day	Sex	20 mg/kg/day	40 mg/kg/day	80 mg/kg/day	80 mg/kg/day
2	Male	327.5 ± 169.8	641.6 ± 274.6	1115 ± 280	1056 ± 74
	Female	305.7 ± 37.4	760.4 ± 275.9	1520 ± 431	1294 ± 200
5	Male	1208 ± 102	1897 ± 676	4098 ± 847	3300 ± 1220
	Female	1173 ± 145	2622 ± 1812	4125 ± 1249	2769 ± 548
8	Male	1483 ± 215	2564 ± 361	3752 ± 1099	3215 ± 428
	Female	1316 ± 188	3304 ± 631	5382 ± 1548	3705 ± 847
11	Male	1310 ± 515	2233 ± 1076	3154 ± 331	3822 ± 702
	Female	974.4 ± 351.2	3533 ± 2239	7365 ± 1716	3059 ± 811
15	Male	283.7 ± 443.6	596.6 ± 439.8	3218 ± 843	3122 ± 750
	Female	108.9 ± 217.8	981.2 ± 991.6	5232 ± 410	4213 ± 994
18	Male	BLQ	BLQ	663 ± 1148	1909 ± 835
	Female	BLQ	BLQ	2750 ± 620	2951 ± 903
21	Male	BLQ	BLQ	BLQ	1071 ± 849
	Female	BLQ	BLQ	816.9 ± 377.2	1792 ± 933
28	Male	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Female	BLQ	BLQ	BLQ	513.2 ± 651.4

2.6.5.16 Pharmacokinetics: Other (Continued)

Test Article: hATG
Report Number: UPL Interoffice Memorandum [redacted] 19[redacted]
(Appendix in 7227-[redacted]-035)

			hATG		Placebo[b]
Parameter[a]	Sex	20 mg/kg/day	40 mg/kg/day	80 mg/kg/day	80 mg/kg/day
Day 1 AUC_{24} (µg•h/mL)[d]	Male	10500 ± 3850	20970 ± 4060	43520 ± 15250	36620 ± 5510
	Female	10280 ± 820	29260 ± 6930	45410 ± 9330	35530 ± 5360
Recovery phase half-life (day)	Male	NC	NC	NC	3.132 ± 1.049
	Female	NC	NC	2.639 ± 1.062	4.687 ± 1.387
Anti-horse IgG antibodies	Male	Yes; N = 6	Yes; N = 6	Yes; N = 5	Yes; N = 6
	Female	Yes; N = 6	Yes; N = 6	Yes; N = 6	Yes; N = 6

a. Values are mean ± standard deviation, N = 6/sex.
b. Normal horse IgG.
c. Values are mean ± standard deviation, N = 3 to 6/sex.
d. Due to unanticipated cryoprecipitation in some samples, only a description of pharmacokinetic trends was possible.
AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ = Below the limit of quantitation (<195 µg/mL); ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; hATG = Lymphocyte immune globulin, anti-thymocyte globulin (equine); IgG = Immunoglobulin G; NC = Not calculated; UPL = Upjohn Pharmaceuticals Limited; USP = United States Pharmacopeia.