2.6.4 薬物動態試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 4
略号一覧 5
用語の定義一覧 6
1 まとめ 7
2 分析法 9
2.1 血漿中インクリシランの分析法（LC-TOF-MS 法） 9
2.2 組織，尿，及び糞中インクリシランの分析法 10
2.2.1 Atto-probe 法 10
2.2.2 LC-TOF-MS 法 10
2.2.3 排泄物及びケージ洗浄液中 ^{14}C-インクリシランの定量 11
2.3 PCSK9 の分析法 11
2.4 抗薬物抗体の分析法 11
3 吸収 12
3.1 単回投与後の薬物動態 12
3.1.1 単回投与後のラットにおける薬物動態 12
3.1.2 単回投与後のサルにおける薬物動態 14
3.2 反復投与後の薬物動態 16
3.2.1 反復投与後のラットにおける薬物動態 16
3.2.2 反復投与後のサルにおける薬物動態 17
4 分布 19
4.1 血漿蛋白結合 19
4.2 ラットにおける非標識インクリシランの組織分布 19
4.3 ラットにおける放射性標識 ^{14}C-インクリシランの組織分布 21
4.4 サルにおける非標識インクリシランの組織分布 25
4.5 サルにおける ^{14}C-インクリシランの組織分布 25
4.6 胎盤通過 28
5 代謝（動物種間の比較） 28
5.1 *In vitro* 代謝 28
5.2 ラット及びサルにおける *in vivo* 代謝 29
5.2.1 非標識インクリシランを用いたラット及びサルの *in vivo* 代謝 29
5.2.2 ラットにおける ^{14}C-インクリシランの代謝プロファイル 29
5.2.3 サルにおける ^{14}C-インクリシランの代謝 33
6 排泄 37
6.1 ラットにおける排泄試験 38

6.2 サルにおける排泄試験 38
6.3 乳汁中移行 39
7 薬物動態学的薬物相互作用 39
7.1 *In vitro* における CYP 阻害及び誘導試験 39
7.2 *In vitro* におけるトランスポーターに関する試験 39
8 その他の薬物動態試験 40
9 考察及び結論 40

表 一 覧

Table 2-1 血漿及び血液中インクリシランの安定性評価結果 9
Table 2-2 マウス，ラット，ウサギ，及びサルのマトリックス中インクリシランの定量及び安定性評価結果 10
Table 3-1 ラットに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値） 13
Table 3-2 雄ラットに単回静脈内持続注入又は単回皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差） 13
Table 3-3 サルに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差） 15
Table 3-4 ラットに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値） 17
Table 3-5 サルに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差） 18
Table 4-1 インクリシランの平均血漿蛋白結合率 19
Table 4-2 ラットに単回静脈内及び皮下投与したときの肝臓及び腎臓中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値） 20
Table 4-3 ラットに 5 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの組織中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値） 20
Table 4-4 ラットに反復皮下投与したときの組織中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値） 21
Table 4-5 雄ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度（QWBA） 22
Table 4-6 雄ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度の PK パラメータ 23
Table 4-7 雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度（QWBA） 25
Table 4-8 雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度の PK パラメータ 27
Table 5-1 ラットにおけるインクリシランの AS 鎖代謝物 30

Table 5-2 ラットにおけるインクリシランの AS 鎖未変化体及び主要代謝物の Cmax 及び Tmax 31
Table 5-3 ラットにおけるインクリシランの S 鎖代謝物 32
Table 5-4 サルにおけるインクリシランの AS 鎖代謝物 34
Table 5-5 サルにおけるインクリシランの AS 鎖未変化体及び主要代謝物の Cmax 及び Tmax 35
Table 5-6 サルにおけるインクリシランの S 鎖代謝物 36

図 一 覧

Figure 3-1 ラットに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差） 12
Figure 3-2 サルに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差） 15
Figure 3-3 ラットに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（最終投与後，平均値 ± 標準偏差） 17
Figure 3-4 サルに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差） 18
Figure 5-1 ラットにおけるインクリシランの AS 鎖推定代謝経路 31
Figure 5-2 ラットにおけるインクリシランの S 鎖推定代謝経路 33
Figure 5-3 サルにおけるインクリシランの AS 鎖推定代謝経路 35
Figure 5-4 サルにおけるインクリシランの S 鎖推定代謝経路 37

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ABC	ATP-binding cassette	ATP 結合カセット
AS	antisense	アンチセンス
AUC	area under the concentration-time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
AUCall	area under the concentration-time curve from time zero to last time point	時間 0 から最終測定時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUCinf	area under the concentration-time curve from time zero to infinity time	時間 0 から無限大時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUClast	area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration	時間 0 から最終定量可能時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BDC	bile duct cannulated	胆管カニューレーション処置
BQL	below quantitation limit	定量限界未満
BSEP	bile salt export pump	-
Cmax	maximum concentration	最高薬物濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DS	desulfoxide	脱スルホキシド
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫測定法
EMSA	electrophoretic mobility shift assay	電気泳動移動度シフト法
GalNAc	N-acetylgalactosamine	N-アセチルガラクトサミン
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	immunoglobulin M	免疫グロブリン M
K_2-EDTA	dipotassium ethylenediamine tetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸二カリウム
L	linker	リンカー
LC-TOF-MS	liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	-
MDR	multidrug resistance	多剤耐性蛋白質
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーリボ核酸
NA	not applicable	該当なし
NC	not calculable	算出できず
ND	not determined, not distinguishable, or not detected	決定できず，識別できず，又は検出されず
NM	not measurable	測定できず
NP	not present	存在せず
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
PCSK9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	プロ蛋白質転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
Q2W	once every 2 weeks	2 週間に 1 回
QM	once monthly	月に 1 回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
S	sense	センス
siRNA	small interfering RNA	低分子干渉 RNA
T1/2	apparent terminal elimination half-life	見かけの終末相消失半減期
Tlast	time to the last measurable concentration	最終定量可能時間
Tmax	time to reach maximum (peak) concentration following drug administration	最高薬物濃度到達時間
Trace	observed but below the quantifiable level	定量可能な濃度を下回ったが検出

用語の定義一覧

用語	定義
インクリシランナトリウムの用量	インクリシランナトリウム 300 mg はインクリシラン 284 mg に相当する。本書ではナトリウムの表記を省略し，「インクリシランナトリウム + 用量（例：インクリシランナトリウム 300 mg）」を「インクリシラン + 用量（例：インクリシラン 300 mg）」と示すこととした。

1 まとめ

本項では，各動物種におけるインクリシランの吸収・分布・代謝・排泄を評価するために実施した試験，及び非臨床薬物動態（PK）試験で使用した生体試料中薬物濃度分析法の概要について示す。

本概要文では，本化合物の名称としてインクリシランを用いる。参照された報告書では，インクリシランは ALN-PCSSC 又は ALN-60212 と記載されている場合がある。

Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルにインクリシランを単回静脈内，並びに単回及び反復皮下投与したときの PK を評価した。なお，反復投与毒性試験で得られたトキシコキネティクスの結果は，2.6.6 毒性試験の概要文に示した。

ラット（8301499 試験）及びサル（8299434 試験）を用いて PK パラメータ，薬力学的パラメータ，バイオアベイラビリティ，組織分布，代謝，及び排泄を評価した。さらに，血漿蛋白結合試験（PCSSC-DSM19-006 試験）及び追加のバイオアベイラビリティ試験（508N-1902 試験）を実施した。また，放射性標識体 ^{14}C-インクリシランを用い，ラット及びサルにおけるマスバランス，組織分布，及び代謝を評価した。

皮下投与後のインクリシランはラット及びサルの循環血中に吸収され，絶対バイオアベイラビリティは，それぞれ 48.9%及び 29.3%であった。PK パラメータに性差は認められなかった。ラット及びサルにインクリシランを皮下投与したときの血漿中曝露量［最高薬物濃度（Cmax）及び時間 0 から最終定量可能時間までの薬物濃度-時間曲線下面積（AUClast）］は，用量にほぼ比例して増加した。ラット及びサルの最高薬物濃度到達時間（Tmax）は，それぞれ約 1 及び 2 時間であり，消失半減期はラットで 0.9～1.7 時間，サルで 2.2～4.3 時間の範囲であった。マウス，ラット，サル，及びヒトの血漿蛋白結合率は，検討した 0.5～50 µg/mL の範囲でインクリシラン濃度の低下とともに上昇した。検討したインクリシランの最低濃度である 0.5 µg/mL では，各動物種における血漿蛋白結合率は 87.4%（ヒト血漿）～93.1%（ラット血漿）の範囲内であった。なお，検討した最低濃度 0.5 µg/mL は，インクリシラン 300 mg をヒトに皮下投与したときの Cmax である 0.607 µg/mL をわずかに下回る濃度であった。

ラット及びサルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したとき，有効性の標的臓器である肝臓並びに主要排泄経路である腎臓で高い放射能濃度が確認された。ラットでは投与部位も含めて評価した結果，皮下投与した部位で最高濃度の放射能が認められた。サルでは，肝臓及び腎臓に加えてリンパ節に高い放射能濃度が確認された。これは毒性試験の組織学的所見において，リンパ節マクロファージに好塩基性顆粒が認められたことと関連していると考えられた。なお，神経組織中の放射能濃度は低かった。ラット及びサルの肝臓内放射能の半減期は，それぞれ約 271 及び 1980 時間であった。

インクリシランは，二本鎖構造のヌクレオチドで，アンチセンス（AS）鎖又はガイド鎖，及びセンス（S）鎖又はパッセンジャー鎖で構成されている。AS 鎖が活性鎖であり，標的プロ蛋白質転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型（PCSK9）相補的メッセンジャーリボ核酸（mRNA）に

結合するように設計されている。マウス，ラット，サル，及びヒトのプール血清中でインクリシランを 24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，82%，72%，及び 80%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 95%，91%，91%，及び 87%であった。したがって，インクリシランは血清中で安定であると考えられた。マウス，ラット，サル，及びヒトの肝 S9 画分中でインクリシランを 24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，43%，63%，及び 41%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 94%，64%，87%，及び 71%であった。

インクリシランは，ラット及びサルでは代謝を受けにくく，いずれの生体試料中においても未変化体の AS 鎖及び S 鎖が主要成分であった。ラットでは 7 種類の生体試料（血漿，尿，胆汁，糞，肝臓，腎臓，及び投与部位）中に，AS(n-1)から AS(n-10)までのサイズに相当する合計 18 種類の AS 鎖代謝物が同定された。サルでは 5 種類の生体試料（血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓）中に，AS(n-1)から AS(n-19)までのサイズに相当する合計 35 種類の AS 鎖代謝物が同定された。両動物種における AS 鎖代謝物は，主にエキソヌクレアーゼによる 5’及び 3’末端に対する末端ヌクレオチド切断を受け生成したと考えられた。AS(n-1)は，AS 鎖未変化体と比較して極めて低濃度であったが，すべての生体試料中で一貫して検出された唯一の代謝物であった。ラット及びサルの AS(n-1)の Cmax 値は，血漿中において AS 鎖未変化体比（AS(n-1)／AS）でそれぞれ 1/27.5 及び 1/24 であり，肝臓中ではそれぞれ 1/35.1 及び 1/9.5 であった。AS(n-2)代謝物は，ラットの尿，並びにサルの尿及び肝臓中でのみ定量限界をわずかに上回る程度の濃度で検出された。その他の AS鎖代謝物の存在量はごく微量であった。インクリシランの S鎖も代謝を受けにくく，ラットでは 7 種類の生体試料中で合計 12 種類の S 鎖代謝物が，サルでは 5 種類の生体試料中で合計 20 種類の S 鎖代謝物が同定された。両動物種ともに，主要な S 鎖代謝物は，3’末端の 3 つの N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）残基の切断及び関連する 3 つのリンカー部分の切断によって生成した代謝物であった。その他の微量代謝物として，3’末端からの末端ヌクレオチド切断により生成する代謝物，すなわちラットでは S(n-6)3’，サルでは S(n-14)3’に至る代謝物が検出された。サルでは，S 鎖の微量代謝物は主に尿及び肝臓に検出されたが，血漿，糞，及び腎臓では認められなかった。

血漿中からの主要な消失経路は腎排泄であり，^{14}C-インクリシランを皮下投与後 7 日間で，ラット及びサルでそれぞれ投与放射能量の約 29%及び 32%が尿中から回収された。

In vitro 試験の結果，インクリシランはヒトチトクローム P450（CYP）の 7 アイソフォーム（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5）に対して直接的又は時間依存的阻害作用を示さず，CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 に対する誘導作用も認められなかった。さらに，インクリシランは多剤耐性蛋白質 1（MDR1），乳癌耐性蛋白質（BCRP），有機アニオントランスポーター1（OAT1），OAT3，有機カチオントランスポーター1（OCT1），OCT2，OCT3，有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B1（OATP1B1），OATP1B3，multidrug and toxin extrusion 1（MATE1），MATE2-K，及び bile salt export pump

（BSEP）を含むヒト薬物トランスポーターの基質ではなく，これらに対する阻害作用も示さなかった。以上の結果から，インクリシランが薬物相互作用に関係する可能性は低いと考えられた。

2 分析法

2.1 血漿中インクリシランの分析法（LC-TOF-MS 法）

インクリシランは二本鎖構造のヌクレオチドで，AS 鎖（A-120190）及び S 鎖（A-122088）から構成されている。マウス，ラット，ウサギ，及びサル血漿［抗凝固剤としてエチレンジアミン四酢酸二カリウム（K_2-EDTA）含有］中のインクリシランの測定には，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用のバリデートされた液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析（LC-TOF-MS）法を使用した[Table 2.6.5.2-508-1603]，[Table 2.6.5.2-319-1405]，[Table 2.6.5.2-508-1508]，[Table 2.6.5.2-319-1406]。バリデートされたラット血漿中インクリシラン分析法は，ラット胎児血漿中のインクリシランの測定にも使用した[Table 2.6.5.2-508-1713]。LC-TOF-MS 法は，二本鎖低分子干渉 RNA（siRNA）の AS 鎖及び S 鎖部分を検出することによってインクリシランを定量する方法であり，その濃度は AS／S 比が 1 を超える場合は，S 鎖の濃度を二本鎖の濃度として示し，比が 1 以下の場合には，AS 鎖の濃度を二本鎖の濃度として示した。

100 µL の試料量を用いたとき，4 種類の動物血漿中インクリシランの定量範囲は，すべて 10～10000 ng/mL である。マウス，ラット，ウサギ，及びサルの血液及び K_2-EDTA 血漿中のインクリシランの安定性の結果を Table 2-1 に示す。マウス，ラット，ウサギ，及びサルを用いた重要な毒性試験（GLP 適用）における血漿中インクリシラン濃度は，すべてバリデートされた分析法により測定された。

Table 2-1 血漿及び血液中インクリシランの安定性評価結果

評価項目	マウス	ラット（成獣）	ラット（胎児）	ウサギ	サル
短期保存安定性（血液）	2 時間（4°C，氷水浴中）	2 時間（4°C，氷水浴中）	2 時間（4°C，氷水浴中）	2 時間（4°C，氷水浴中）	2 時間（4°C，氷水浴中）
前処理後試料中安定性	158 時間（室温）	46 時間（室温）	46 時間（室温）	72 時間（室温）	144 時間（室温）
短期保存安定性（血漿）	44 時間（室温）	24 時間（室温）	24 時間（室温）	24 時間（室温）	24 時間（室温）
長期保存安定性（血漿）	90 日間（-20°C 及び -70°C）	370 日間（-20°C 及び -70°C）	370 日間（-20°C 及び -70°C）	113 日間（-20°C 及び -70°C）	371 日間（-20°C 及び -70°C）
凍結融解安定性（血漿）	5 サイクル（-20°C 及び -70°C）	4 サイクル（-70°C）	4 サイクル（-70°C）	5 サイクル（-20°C 及び -70°C）	5 サイクル（-70°C）

Source: Table 2.6.5.2-508-1603, Table 2.6.5.2-319-1405, Table 2.6.5.2-508-1508, Table 2.6.5.2-319-1406, Table 2.6.5.2-508-1713

2.2 組織，尿，及び糞中インクリシランの分析法

尿，糞，及び組織（肝臓，腎臓，及び心臓）中のインクリシラン濃度を測定するために，開発の進行に伴って異なる分析方法を用いた。初期の GLP非適用試験を含むいくつかの試験では，蛍光標識（Atto-probe）を利用したハイブリダイゼーション法を用いた。その後の試験では，LC-TOF-MS 法を用いた。

2.2.1 Atto-probe 法

Atto-probe 蛍光法は血漿，組織（肝臓，腎臓，心臓，脳，肺，脾臓，空腸，精巣，副腎，甲状腺，胸腺，及び膵臓），尿，及び糞中インクリシラン定量法として使用した。本分析法のバリデーションは実施していない。本分析法の詳細は各試験報告書に記載した[Table 2.6.7.1-8297717]，[Table 2.6.7.1-8297013]，[Table 2.6.7.1-PCSSC-NCD14-001]，[Table 2.6.7.1-8302576]，[Table 2.6.7.1-8297015]，[Table 2.6.7.1-8302575]，[Table 2.6.7.1-8297016]，[Table 2.6.5.1-8301499]，[Table 2.6.3.1-8299434]。

2.2.2 LC-TOF-MS 法

LC-TOF-MS 法は，血漿，組織（肝臓，腎臓，及び心臓），糞抽出物，尿，及び乳汁中インクリシラン定量法として使用した[Table 2.6.5.2-508N-1718]，[Table 2.6.5.2-508N-1503]，[Table 2.6.5.2-508N-1703]，[Table 2.6.5.2-508N-1504]，[Table 2.6.5.2-508N-1714]，[Table 2.6.5.2-508N-1715]，[Table 2.6.5.2-508N-1723]。

マウス，ラット，ウサギ，及びサルの試料中インクリシランの定量範囲及び安定性の結果を Table 2-2 に示す。

Table 2-2 マウス，ラット，ウサギ，及びサルのマトリックス中インクリシランの定量及び安定性評価結果

	マウス	ラット	ウサギ	サル
試験番号	508N-1718	508N-1503[a] 508N-1714[b] 508N-1723[c]	508N-1703	508N-1504[a] 508N-1715[b]
評価項目				
定量範囲（全マトリックス）	20-10000 ng/mL[d] 200-100000 ng/g	20-10000 ng/mL[d] 200-100000 ng/g	20-10000 ng/mL[d] 200-100000 ng/g	20-10000 ng/mL[d] 200-100000 ng/g
溶液中の室温保存安定性	肝臓及び腎臓：24 時間	肝臓，腎臓，及び心臓：22 時間 糞：24 時間 尿：24 時間 乳汁：4 時間	肝臓：24 時間	肝臓，腎臓，及び心臓：5 時間 糞：24 時間 尿：9 時間
前処理後試料中の室温保存安定性	肝臓：96 時間 腎臓：164 時間	肝臓：113 時間 腎臓：48 時間 心臓：67 時間 糞：92 時間	肝臓：91 時間	肝臓：140 時間 腎臓：74 時間 心臓：134 時間 糞：114 時間

	マウス	ラット	ウサギ	サル
試験番号	508N-1718	508N-1503[a] 508N-1714[b] 508N-1723[c]	508N-1703	508N-1504[a] 508N-1715[b]
評価項目				
長期保存安定性（-70°C）	肝臓：90 日間 腎臓：93 日間	尿：148 時間 乳汁：64 時間 肝臓：43 日間 腎臓：40 日間 心臓：39 日間 糞：90 日間 尿：89 日間 乳汁：91 日間	肝臓：93 日間	尿：97 時間 肝臓：28 日間 腎臓：30 日間 心臓：24 日間 糞：92 日間 尿：97 日間
溶液の凍結融解安定性	肝臓：4 サイクル（-70°C） 腎臓：5 サイクル（-70°C）	肝臓，腎臓，及び心臓：5 サイクル（-70°C） 糞：4 サイクル（-70°C） 尿：5 サイクル（-70°C）	肝臓：4 サイクル（-70°C）	肝臓，腎臓，及び心臓：4 サイクル（-70°C） 糞：5 サイクル（-70°C） 尿：5 サイクル（-70°C）

Source: Table 2.6.5.2-508N-1718, Table 2.6.5.2-508N-1503, Table 2.6.5.2-508N-1714, Table 2.6.5.2-508N-1723, Table 2.6.5.2-508N-1703, Table 2.6.5.2-508N-1504, Table 2.6.5.2-508N-1715

[a] 組織（肝臓，腎臓，及び心臓）の分析法

[b] 尿及び糞の分析法

[c] 乳汁の分析法

[d] 試料量：100 µL

2.2.3 排泄物及びケージ洗浄液中 ^{14}C-インクリシランの定量

尿，胆汁，糞，及びケージ洗浄液中の放射能濃度を液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。

2.3 PCSK9 の分析法

GLP 適用のバリデートされた酵素結合免疫測定法（ELISA）によりカニクイザル血漿（K_2-EDTA 処理）中の PCSK9 濃度を測定した[Table 2.6.5.2-3800015]。

2.4 抗薬物抗体の分析法

ラット，ウサギ，及びサル血清中の抗インクリシラン免疫グロブリン G（IgG）又は免疫グロブリン M（IgM）抗体の検出には，定性的 ELISA を使用した[2.6.5.2-3000695]，[2.6.5.2-2801087]，[2.6.5.2-3000698]。

3 吸収

ラット及びサルに単回及び反復投与したときの PK を評価した。PK パラメータに顕著な性差は認められなかったため，本項では特に記載のない限り雌雄を合わせて集計した結果を示す。雌雄ごとの PK パラメータに関しては，2.6.5 薬物動態試験概要表に示した。

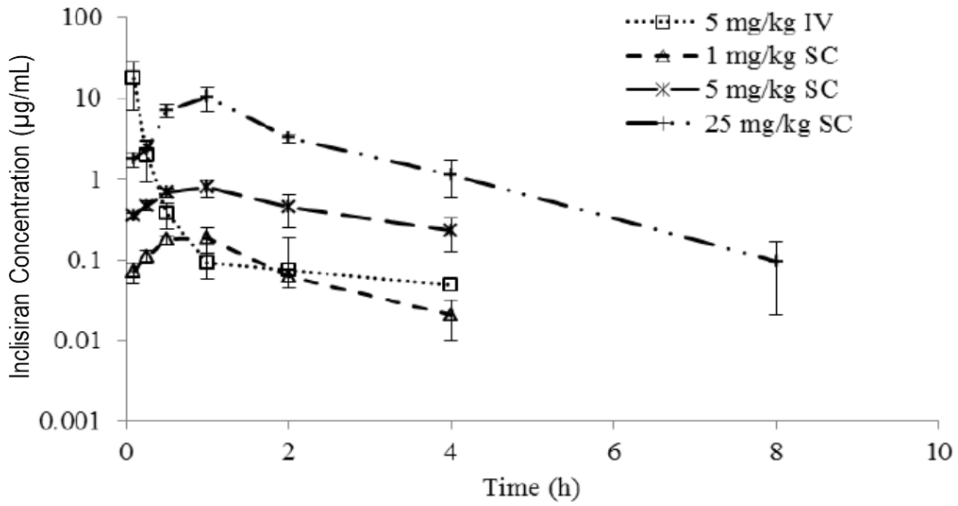
3.1 単回投与後の薬物動態

3.1.1 単回投与後のラットにおける薬物動態

雌雄 Sprague-Dawley ラット（n = 20／性／群）にインクリシランを 5 mg/kg の用量で尾静脈内に単回静脈内ボーラス投与及び 1，5，又は 25 mg/kg の用量（1.5 mL/kg）で単回皮下投与した[Table 2.6.5.3A-8301499]。PK パラメータに明確な性差は認められなかった。血漿中濃度推移を Figure 3-1 に，PK パラメータの要約を Table 3-1 に示す。

静脈内投与後の消失は速やかであり，終末相の半減期は 0.3 時間であった。1，5，又は 25 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの Tmax は，0.8～1.0 時間であった。インクリシランの曝露量（Cmax 及び AUClast）は，1 及び 5 mg/kg の間では概ね用量に比例して増加し，5 及び 25 mg/kg の間では用量比を上回って増加した。皮下投与後の見かけの終末相消失半減期は，すべての用量で 0.9～1.7 時間の範囲であった。5 mg/kg の用量で皮下投与したときの絶対バイオアベイラビリティは 35.1%であった。

Figure 3-1 ラットに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差）



Source: 4.2.2.2-1-8301499-Figure 2

IV：静脈内投与，SC：皮下投与

Table 3-1 ラットに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値）

投与経路	静脈内投与	皮下投与		
投与量（mg/kg）	**5**	**1**	**5**	**25**
PK パラメータ [a]				
Tmax (h)	NA	0.8	1.0	1.0
Cmax (µg/mL)	58.8[b]	0.198	0.787	10.3
AUClast (h·µg/mL)	5.36	0.348	1.88	19.5
T1/2 (h)	0.3	0.9	1.7	1.1

Source: Table 2.6.5.3A-8301499

NA：該当なし，T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] n = 20／性／群から経時的に採血し，各時点で雌雄各 2 例の平均血漿中濃度推移より 1 つの PK パラメータを算出し，その雌雄のパラメータの平均値を示す。

[b] 時間 0 における推定薬物濃度

508N-1902 試験では，雄の Sprague-Dawley ラット（n = 3／群）にインクリシラン 5 mg/kg を単回静脈内投与（1 時間の持続注入）及び単回皮下投与したときのインクリシランの PK を評価した [Table 2.6.5.3B-508N-1902]。

PK パラメータの要約を Table 3-2 に示す。皮下投与後の Tmax は 1 時間であった。静脈内投与群の半減期は 0.12 時間（算出可能であった 1 例の値）であり，皮下投与群の半減期である 1.18 時間と比較して著しく短かった。皮下投与後の血漿中濃度の緩徐な低下は，皮下投与部位からの持続的な吸収を示唆している。5 mg/kg の用量で皮下投与したときのバイオアベイラビリティは 48.9%であった。

Table 3-2 雄ラットに単回静脈内持続注入又は単回皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差）

投与経路	静脈内投与	皮下投与
投与量（mg/kg）	**5**	**5**
PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差）		
Tmax (h)	1.0[a]	1.0[a]
Cmax (ng/mL)	1931 ± 791	237 ± 25
AUClast (h·ng/mL)	1515 ± 486	741 ± 118
T1/2 (h)	0.12[b]	1.18 ± 0.11

Source: Table 2.6.5.3B-508N-1902

T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] 中央値

[b] 値は 1 例の動物からのものであり，平均ではない。

雄 Sprague-Dawley ラット（n = 6～10／群）に ^{14}C-インクリシランを 65 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの PK を評価した[Table 2.6.5.3C-508-1716]。血液から血漿を分取し，総放射能濃度は LSC により，インクリシラン濃度はバリデートされた LC-TOF-MS 法により測定した。

LSCによって測定した血漿中の総放射能濃度の Cmaxは 8.387 µg equiv/mL であり（6例の平均濃度推移より算出，以下同様），Tmax は 1 時間であった。血漿中の総放射能濃度は経時的に減少し，半減期は 6.9 時間であった。血漿中の総放射能濃度の時間 0 から無限大時間までの薬物濃度-時間曲線下面積（AUCinf）は 54.93 h·µg equiv/mL であった。LC-TOF-MS によって測定した血漿中インクリシラン未変化体の Cmax は 4.977 µg/mL であり，Tmax は 1 時間であった。Cmax に達した後，血漿中濃度は投与後 8 時間まで経時的に減少し，最終測定時点においても 6 例中 2 例でインクリシランが検出された。インクリシラン未変化体の Cmaxは，総放射能濃度の Cmax の約 59%であり，未変化体が皮下投与後のラット循環血漿中の主要成分であることが示唆された。

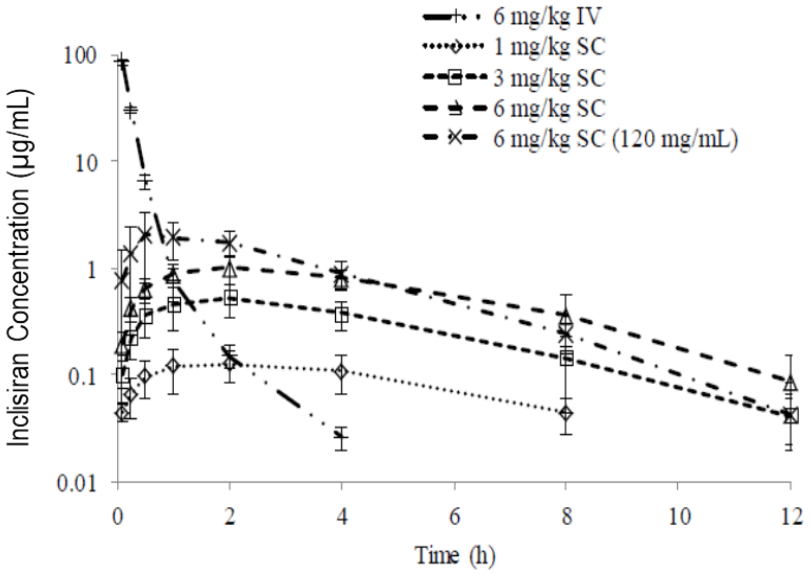
投与後 1～2352 時間の範囲の各時点 1 例の動物から血液試料を採取し，LSC により血液及び血漿中の総放射能濃度を測定した。血液及び血漿中の総放射能濃度の Cmax はそれぞれ 6.782 及び 10.48 µg equiv/mL であり，Tmax はいずれも 1 時間であった。血液及び血漿中の総放射能濃度の半減期はそれぞれ 146.7 及び 72.3 時間であり，AUCinf はそれぞれ 144.9 及び 163.3 h·µg equiv/mL であった。血液及び血漿中の総放射能濃度は，投与後 336 時間以降は定量限界未満（BQL）となった。血液／血漿中放射能濃度比は，投与後 120 時間まで 1.0 以下（0.58～1.05 の範囲）であり，初期の時点では血液に比較して血漿への分配が大きいことが示された。定量可能な最終時点である投与後 168 時間での血液／血漿中濃度比は 1.27 であり，この時点では血液への分配が大きいことが示唆された。

3.1.2 単回投与後のサルにおける薬物動態

雌雄カニクイザルにインクリシランを 6 mg/kg の用量で単回静脈内ボーラス投与（n = 2／性），及び 1，3，又は 6 mg/kg の用量で単回皮下投与（n = 4／性／群）した[Table 2.6.5.3D-8299434]。血漿中濃度推移を Figure 3-2 に，PK パラメータの要約を Table 3-3 に示す。

PK パラメータに明確な性差は認められなかった。静脈内投与群では，投与後 4 時間まで血漿中インクリシラン濃度が定量可能であったが，消失は速く，見かけの血漿中半減期は 0.6 時間であった。皮下投与群では，いずれの用量でも少なくとも投与後 8 時間まで血漿中インクリシラン濃度が定量可能であった。インクリシランの血漿中曝露量（Cmax 及び AUClast）は，検討した範囲では用量にほぼ比例して増加した。見かけの終末相消失半減期は，2.2～4.3 時間の範囲であった。4又は 120 mg/mLの投与液として，インクリシランを 6 mg/kgの用量で皮下投与したときの絶対バイオアベイラビリティの平均値は，それぞれ 24.7%及び 33.8%であり，皮下投与時のバイオアベイラビリティは，投与液の濃度にはほとんど影響を受けないことが示された。

Figure 3-2　サルに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差）



Source: 4.2.1.1-6-8299434-Figure 6
IV：静脈内投与，SC：皮下投与

Table 3-3　サルに単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差）

投与経路	静脈内投与	皮下投与			
投与量（mg/kg）	6[a]	1[b]	3[b]	6[b]	6[a, c]
PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差）					
Tmax (h)	NA	2.0 ± 1.3	1.8 ± 0.5	2.1 ± 0.8	1.4 ± 0.8
Cmax (µg/mL)	146 ± 12	0.137 ± 0.050	0.526 ± 0.180	1.03 ± 0.28	2.30 ± 1.17
AUClast (h·µg/mL)	26.4 ± 2.2	0.741 ± 0.219	3.06 ± 1.12	6.53 ± 1.53	8.93 ± 2.61
T1/2 (h)	0.6 ± 0.1	4.3 ± 2.0	2.4 ± 0.6	2.2 ± 0.4	1.9 ± 0.6

Source: Table 2.6.5.3D-8299434
NA：該当なし，T1/2：見かけの終末相消失半減期
[a] n = 2／性／群
[b] n = 4／性／群
[c] この群のみ高濃度（120 mg/mL）の投与液を投与（他の 6 mg/kg 群は，4 mg/mL の投与液）

雄カニクイザル（n = 12）に ^{14}C-インクリシランを 20 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの PK を評価した[Table 2.6.5.3E-175986]。血液及び血漿中の総放射能濃度は LSC により，血漿中インクリシラン濃度は LC-TOF-MS 法により測定した。

血漿中では，総放射能濃度の Cmax は 5.91 µg equiv/mL であり（各時点 1～7 例の平均濃度推移より算出，以下同様），Tmax は 2 時間であった。AUClast は 82.2 h·µg equiv/mL であった。利用可

能なすべての濃度を用いての見かけの終末相消失半減期の算出はできなかったが，投与後 24 時間までの濃度から求めた消失半減期は 3.59 時間であった。

血液中では，総放射能濃度の Cmax は 3.13 µg equiv/g であり，Tmax は 2 時間であった。AUClast は 117 h·µg equiv/g であり，利用可能なすべての濃度を用いての見かけの終末相消失半減期の算出はできなかったが，投与後 24 時間までの濃度から求めた消失半減期は 3.72 時間であった。Cmax に関して，血液中の総放射能濃度が血漿中総放射能濃度の約 1/2 であった他は，血液及び血漿中の曝露量（AUClast）は近似しており，Tmax の値は同一であった。

LC-TOF-MS による分析の結果，血漿中インクリシラン濃度の Cmax は 2.39 µg equiv/mL であり，血漿中総放射能濃度の約 1/2 であった。血漿中インクリシランの AUClast は 25.3 h·µg equiv/mL であり，血漿中総放射能で得られた値の約 1/3 であった。血漿中インクリシランの Tmax は 2 時間であり，総放射能濃度で得られた値と同一であった。

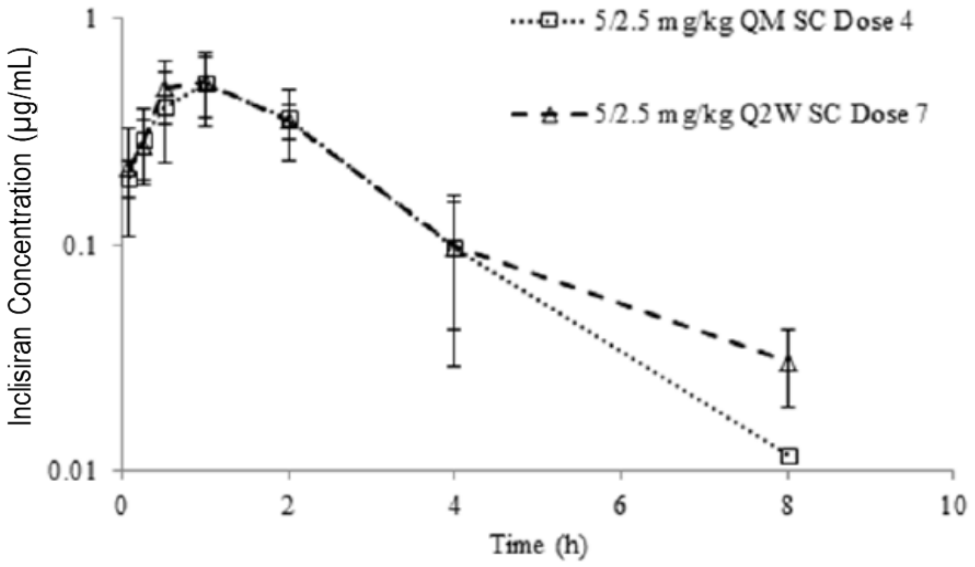
3.2 反復投与後の薬物動態

3.2.1 反復投与後のラットにおける薬物動態

雌雄 Sprague-Dawley ラット（n = 20／性／群）に反復皮下投与したときの血漿中 PK パラメータを評価した[Table 2.6.5.4A-8301499]。動物を 2 群に分け，最初の群には負荷用量として 5 mg/kg を単回投与し，続いて月に 1 回（QM）（29，57，及び 85 日目に）2.5 mg/kg を投与した（投与回数：合計 4 回）。もう一方の群には負荷用量として 5 mg/kg を単回投与し，続いて 2 週間に 1 回（Q2W）（15，29，43，57，71，及び 85 日目に）2.5 mg/kg を投与した（投与回数：合計 7 回）。

最終投与後の平均血漿中濃度推移を Figure 3-3 に，最終投与後の PK パラメータの要約を Table 3-4 に示す。明確な性差は認められなかった。最終投与後の PK パラメータは，2 種類の投与間隔（QM 及び Q2W）で類似しており，投与間隔はインクリシランの PK に影響を及ぼさないことが示唆された。QM 又は Q2W の各投与サイクルの投与前最終採血時点での血漿中濃度は，BQL（10 ng/mL 未満）であり，インクリシランは蓄積していないと考えられた。いずれの投与方法でも，Tmax は約 1 時間であり，終末相の消失半減期は約 1 時間であった。

Figure 3-3　　ラットに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（最終投与後，平均値 ± 標準偏差）



Source: 4.2.2.2-1-8301499-Figure 8

QM：月に 1 回，Q2W：2 週間に 1 回，SC：皮下投与

Table 3-4　　ラットに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値）

投与方法	5 mg/kg + 2.5 mg/kg (QM)[a]	5 mg/kg + 2.5 mg/kg (Q2W)[b]
PK パラメータ [c]		
Tmax (h)	1.0	0.8
Cmax (µg/mL)	0.519	0.600
AUClast (h·µg/mL)	1.43	1.47
T1/2 (h)	1.0	1.3

Source: Table 2.6.5.4A-8301499

T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] 負荷用量 5 mg/kg を単回皮下投与し，続いて月に 1 回 2.5 mg/kg を 3 回投与（投与回数：合計 4 回）

[b] 負荷用量 5 mg/kg を単回皮下投与し，続いて 2 週間に 1 回 2.5 mg/kg を 6 回投与（投与回数：合計 7 回）

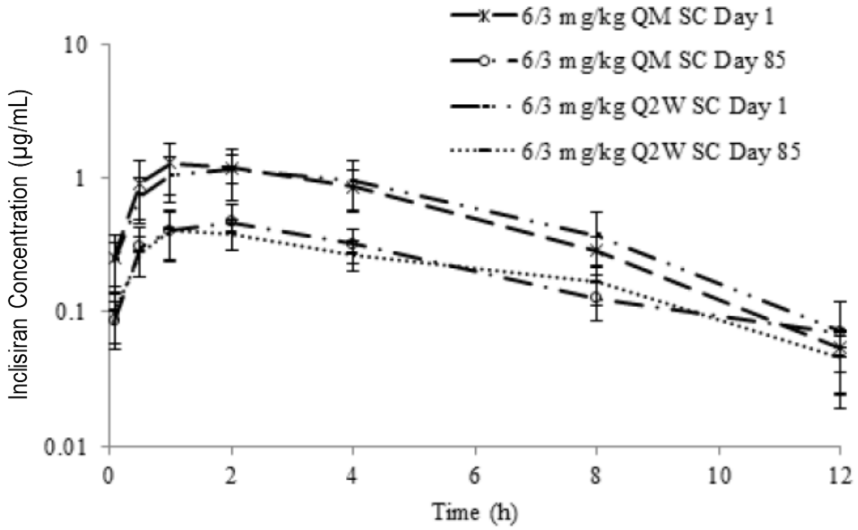
[c] n = 20／性／群から経時的に採血し，各時点で雌雄各 2 例の平均血漿中濃度推移より 1 つの PK パラメータを算出し，その雌雄のパラメータの平均値を示す。

3.2.2　　反復投与後のサルにおける薬物動態

雌雄カニクイザル（n = 3／性／群）に反復皮下投与したときの血漿中 PK パラメータを評価した[Table 2.6.5.4B-8299434]。動物を 2 群に分け，最初の群には負荷用量として 6 mg/kg を単回投与し，続いて QM で（29，57，及び 85 日目に）3.0 mg/kg を投与した（投与回数：合計 4 回）。もう一方の群には負荷用量として 6 mg/kg を単回投与し，続いて Q2W で（15，29，43，57，71，及び 85 日目に）3.0 mg/kg を投与した（投与回数：合計 7 回）。

平均血漿中濃度推移を Figure 3-4 に，PK パラメータの要約を Table 3-5 に示す。PK に明確な性差は認められなかった。最終投与後の PKパラメータは，2種類の投与間隔（QM及び Q2W）で類似しており，投与間隔はインクリシランの PK に影響を及ぼさないことが示唆された。どちらの投与間隔でも，1 日目及び 85 日目の少なくとも投与後 8 時間までの血漿中濃度が定量可能であった。Tmax の平均値は約 2 時間で，終末相の半減期は 2～3 時間であった。また，どちらの投与間隔でも，インクリシランの Cmax 及び AUClast の平均値に関して，85 日目の値は 1 日目の値の約 1/3 であった。

Figure 3-4　サルに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシラン濃度推移（平均値 ± 標準偏差）



Source: 4.2.1.1-6-8299434-Figure 13
QM：月に 1 回，Q2W：2 週間に 1 回，SC：皮下投与

Table 3-5　サルに QM 又は Q2W で反復皮下投与したときの血漿中インクリシランの PK パラメータ（平均値 ± 標準偏差）

投与方法	6 mg/kg + 3 mg/kg (QM)[a]		6 mg/kg + 3 mg/kg (Q2W)[b]	
PK パラメータ [c]	Day 1	Day 85	Day 1	Day 85
Tmax (h)	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.4	2.5 ± 1.2	1.7 ± 0.5
Cmax (µg/mL)	1.35 ± 0.49	0.478 ± 0.171	1.27 ± 0.47	0.434 ± 0.160
AUClast (h·µg/mL)	7.06 ± 1.79	2.60 ± 0.46	7.39 ± 1.85	2.61 ± 0.34
T1/2 (h)	2.1 ± 0.4	3.4 ± 1.8	2.3 ± 1.0	3.3 ± 0.9

Source: Table 2.6.5.4B-8299434
T1/2：見かけの終末相消失半減期
[a] 負荷用量 6 mg/kg を単回皮下投与し，続いて月に 1 回 3 mg/kg を 3 回投与（投与回数：合計 4 回）
[b] 負荷用量 6 mg/kg を単回皮下投与し，続いて 2 週間に 1 回 3 mg/kg を 6 回投与（投与回数：合計 7 回）
[c] n = 6

4 分布

非標識及び ^{14}C-放射性標識のインクリシランを用いて，Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルにおける組織分布を評価した。放射性標識体を用いた試験では，AS 鎖の 5’末端から 17 位に[4-^{14}C]-2’-OMe ウリジン部分を含有するインクリシランを使用した。

- インクリシランは，低濃度側で血漿蛋白結合率が上昇し，動物種間の結合率の差は小さい。
- 有効性の標的臓器である肝臓並びに血漿からの主要な消失臓器である腎臓中に高濃度のインクリシランが認められる。
- インクリシランは，肝臓中よりも低い濃度で，広範囲の組織に分布する。
- 組織中での滞留時間は長く，ほとんどの組織で半減期が 100 時間を大きく超える。

4.1 血漿蛋白結合

電気泳動移動度シフト法（EMSA）を使用して，C57BL/6 マウス，Sprague-Dawley ラット，カニクイザル，及びヒトの血漿蛋白へのインクリシランの結合を評価した[Table 2.6.5.6-PCSSC-DSM19-006]。

マウス，ラット，サル，及びヒト血漿におけるインクリシランの平均蛋白結合率の要約を Table 4-1 に示す。蛋白結合率は，インクリシラン濃度の低下とともに上昇し，検討した最低濃度である 0.5 µg/mL において，いずれの動物種においても最高の蛋白結合率が確認された。0.5 µg/mL における血漿蛋白結合率は，87.4%（ヒト血漿）～93.1%（ラット血漿）の範囲内であり，動物種間で類似していた。

Table 4-1 インクリシランの平均血漿蛋白結合率

濃度	平均血漿蛋白結合率（%）			
（µg/mL）	マウス	ラット	サル	ヒト
50	25.2	36.1	35.7	17.0
25	50.5	67.3	64.0	43.7
10	59.9	77.7	70.0	52.3
5	74.3	86.1	78.7	75.8
1	86.3	92.5	87.0	86.4
0.5	88.2	93.1	87.7	87.4

Source: Table 2.6.5.6-PCSSC-DSM19-006

4.2 ラットにおける非標識インクリシランの組織分布

雌雄の Sprague-Dawley ラットにインクリシランを 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，又は 1，5，及び 25 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの肝臓及び腎臓中の分布，並びに 5 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの副腎，脳，胸腺，甲状腺，膵臓，空腸，及び精巣中のインクリシランの組織分布を評価した[Table 2.6.5.5A-8301499]。各臓器の PK パラメータに性差は認められなかった。

5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，又は 1，5，及び 25 mg/kg の用量で単回皮下投与したとき，肝臓では少なくとも投与後 336 時間まで，腎臓では少なくとも投与後 672 時間までインクリシラン濃度の定量が可能であった。Table 4-2 に詳細を示すように，5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの肝臓及び腎臓中のインクリシラン濃度（雌雄合算）の Tmax は，それぞれ 5 及び 0.3 時間であり，見かけの終末相消失半減期の平均値は，それぞれ 108 及び 274 時間であった。インクリシランを 1，5，及び 25 mg/kg の用量で単回皮下投与したとき，肝臓における Cmax 及び AUClast の値は，検討した用量範囲において概ね用量に比例して増加した。肝臓中の見かけの半減期の平均値は，皮下投与全体で 53.1～191 時間の範囲内であった。すべての用量範囲で，腎臓の曝露量（AUClast）は肝臓よりも低かった（肝臓中の約 1/5 から 1/2）。腎臓における Cmax 及び AUClast の値は，1 及び 5 mg/kg の間では用量に比例して増加したが，5 及び 25 mg/kg の間では用量比を上回って増加した。腎臓中の見かけの半減期の平均値は，皮下投与全体で 245～355 時間の範囲内であった。

Table 4-2　ラットに単回静脈内及び皮下投与したときの肝臓及び腎臓中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値）

投与方法	5 mg/kg 静脈内投与		1 mg/kg 皮下投与		5 mg/kg 皮下投与		25 mg/kg 皮下投与	
	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓
Tmax (h)	5.0	0.3	8.0	50.0	8.0	60.0	8.0	60.0
Cmax (µg/g)	222	33.3	40.3	4.84	283	14.2	649	234
AUClast (h·µg/g)	13750	9878	3552	1045	22600	4020	95008	48113
T1/2 (h)	108	274	191	245	53.1	355	136	301

Source: Table 2.6.5.5A-8301499
T1/2：見かけの終末相消失半減期

Table 4-3 に示すように，インクリシランを 5 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの組織分布（雌雄合算）では，インクリシランは主に肝臓に分布し，次に腎臓にも高く分布すると考えられた。肝臓と比較して，副腎（1/1076），胸腺（1/758），甲状腺（1/94），膵臓（1/36），空腸（1/278），及び精巣（1/743）の曝露量（AUClast）は低かった。Table 4-3 には示していないが，脳内ではインクリシランは検出されなかった。

Table 4-3　ラットに 5 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの組織中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値）

PK パラメータ	肝臓 [a]	腎臓 [a]	副腎	胸腺	甲状腺	膵臓	空腸	精巣 [b]
Tmax (h)	8.0	60.0	4.0	2.0	14.0	16.0	16.0	8.0
Cmax (µg/g)	283	14.2	0.295	0.490	1.50	2.38	0.540	0.200
AUClast (h·µg/g)	22600	4020	21.0	29.8	241	627	81.4	30.4
T1/2 (h)	53.1	355	187[b]	236[b]	326[b]	306	NR	NR

Source: Table 2.6.5.5A-8301499

NR：報告書に記載なし，T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] Table 4-2 の値を引用

[b] 雄のみの値

雌雄 Sprague-Dawley ラットに次に示す 2 種類の投与方法で反復投与したときの肝臓，腎臓，及び心臓におけるインクリシランの組織分布を評価した[Table 2.6.5.5C-8301499]。すなわち，負荷用量として 5 mg/kg を単回投与し，続いて QM で 2.5 mg/kg を 3 回投与するものと，負荷用量として 5 mg/kg を単回投与し，続いて Q2W で 2.5 mg/kg を 6 回投与するものである。

肝臓，腎臓，及び心臓におけるインクリシランの PK パラメータに明確な性差は認められなかった。雌雄合算した PK パラメータの平均値の要約を Table 4-4 に示す。QM 投与群の心臓の PK パラメータは，定量可能な濃度の時点数が不十分であったため，算出できなかった。肝臓及び腎臓中のインクリシラン濃度は，いずれの投与方法でも投与後 672 時間まで定量可能であったが，心臓中の濃度は，Q2W 投与群の投与後 24 時間までしか測定できなかった（結果は未提示）。肝臓及び腎臓における消失半減期は，それぞれ 74.4～92.2 時間及び 523～685 時間であり，単回投与後の結果と類似していた。各組織中の曝露量（Cmax 及び AUClast）は，どちらの投与方法でも類似しており，いずれの投与間隔でもインクリシランは蓄積していないと考えられた。

Table 4-4　ラットに反復皮下投与したときの組織中インクリシランの PK パラメータ（雌雄合算，平均値）

投与方法	5 mg/kg + 2.5 mg/kg (QM)[a]			5 mg/kg + 2.5 mg/kg (Q2W)[b]		
PK パラメータ	肝臓	腎臓	心臓	肝臓	腎臓	心臓
Tmax (h)	8.0	96.0	-	4.0	14.0	14.0
Cmax (µg/g)	159	12.1	-	112	15.3	0.287
AUClast (h·µg/g)	11193	5436	-	10355	7515	5.67
T1/2 (h)	74.4	685	-	92.2	523	NR

Source: Table 2.6.5.5C-8301499

-：曝露量が不十分なため，算出できず，NR：報告書に記載なし，T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] 負荷用量 5 mg/kg を単回皮下投与し，続いて月に 1 回 2.5 mg/kg を 3 回投与（投与回数：合計 4 回）

[b] 負荷用量 5 mg/kg を単回皮下投与し，続いて 2 週間に 1 回 2.5 mg/kg を 6 回投与（投与回数：合計 7 回）

4.3　ラットにおける放射性標識 ^{14}C-インクリシランの組織分布

508-1716 試験では，雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-インクリシランを 1.25 mL/kg（目標用量：65 mg/kg）で単回皮下投与した[Table 2.6.5.5B-508-1716]。

定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）で測定された臓器及び組織中の総放射能濃度を Table 4-5 に示す。すべての時点で最高濃度の放射能が確認された組織は投与部位であり，続いて肝臓及び腎皮質に高い放射能濃度が認められた。ほとんどの時点で，放射能が非常に低濃度，又はほとんど検出されなかった組織は，眼の水晶体，白色脂肪，骨，骨格筋，及び神経組織（脊髄及び脳）であった。最終測定時点である投与後 2352 時間では，45 組織のうち 15 組織で放射能が定量可能であった。

Table 4-5 雄ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度（QWBA）

組織	濃度（µg equiv/g 組織）									
	1 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	336 h	672 h	1032 h	2352 h
脂肪（褐色）	4.7	4.9	2.8	3.1	2.1	3.1	1.6	0.7	0.2	BQL
脂肪（白色）	0.2	0.6	1.0	1.2	0.9	0.4	0.3	0.2	BQL	BQL
副腎	2.0	3.3	3.6	6.6	5.2	3.3	2.0	0.9	0.5	0.2
副腎（皮質）	1.6	2.8	3.2	5.6	3.7	2.9	1.7	0.5	0.2	0.1
副腎（髄質）	3.6	5.3	7.2	10.0	9.9	6.5	4.5	1.9	1.4	0.3
胆汁（胆管内）	20.7	25.7	28.2	25.1	14.0	7.5	6.0	0.5	BQL	BQL
血液（心臓）	10.0	6.9	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	BQL
骨	0.3	0.7	0.9	1.4	0.8	0.9	0.5	0.3	0.3	BQL
骨髄	3.2	6.2	10.9	16.3	12.8	10.5	9.1	2.5	1.6	0.2
脳（小脳）	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	BQL	BQL
脳（大脳）	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3	BQL	BQL
脳（延髄）	BQL	0.3	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	BQL	BQL
盲腸	4.2	16.4	21.4	12.4	10.6	9.2	6.6	4.8	2.3	BQL
盲腸（内容物）	BQL	4.9	208.5	69.1	9.8	6.8	2.8	0.5	BQL	BQL
精巣上体	1.5	2.8	4.6	3.7	3.2	3.2	2.0	1.4	0.5	BQL
食道	1.2	3.7	4.6	3.4	3.2	3.7	2.7	0.6	0.1	BQL
眼（水晶体）	BQL	BQL	0.3	0.1	0.1	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
眼（ブドウ膜）	1.2	2.3	2.5	1.4	1.6	0.7	0.6	0.4	0.4	BQL
ハーダー腺	2.2	6.7	13.2	15.9	13.6	10.2	8.7	8.2	4.2	0.6
心臓	3.0	4.3	3.9	3.7	3.2	3.1	2.1	0.9	0.2	BQL
腎臓（皮質）	53.7	152.7	383.0	278.4	226.0	151.3	114.4	30.9	9.0	1.8
腎臓（髄質内層）	25.9	18.9	2.4	2.2	3.8	2.6	1.6	0.5	0.1	BQL
腎臓（髄質）	26.2	30.1	42.3	43.3	29.1	17.7	12.6	7.2	2.5	0.4
腎臓（髄質外層）	30.4	51.5	69.6	61.7	43.0	22.5	23.2	10.8	2.9	0.2
大腸	3.0	8.7	18.7	18.2	14.7	13.4	9.7	3.6	1.5	BQL
大腸（内容物）	BQL	0.3	114.5	66.6	6.2	7.0	4.4	0.6	BQL	BQL
肝臓	144.5	463.4	652.6	335.3	351.7	284.0	101.4	6.8	0.4	0.3
肺	2.3	2.4	1.1	1.7	1.4	1.6	1.5	0.3	0.1	BQL
リンパ節	1.6	3.4	14.5	18.3	17.1	10.7	6.7	2.7	1.3	BQL
乳腺領域	1.3	3.5	4.4	4.3	3.6	3.5	3.3	0.3	0.2	BQL
口腔粘膜	2.2	5.0	2.3	2.6	5.4	1.9	1.3	1.0	0.2	0.1
膵臓	2.1	5.5	11.2	12.3	13.7	12.4	12.1	6.3	2.0	0.4
脳下垂体	1.9	2.6	1.2	3.9	3.2	2.5	1.7	1.0	BQL	BQL
包皮腺	2.2	5.5	6.7	12.7	13.4	9.9	6.7	2.6	1.0	BQL
前立腺	1.9	2.8	4.4	6.3	2.7	2.6	2.2	0.7	0.2	BQL
唾液腺	4.3	6.8	13.5	17.9	14.2	14.3	14.3	3.9	1.1	0.2
精嚢	0.5	1.7	1.8	2.5	2.2	2.0	1.0	0.2	BQL	BQL

組織	濃度（μg equiv/g 組織）									
	1 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	336 h	672 h	1032 h	2352 h
骨格筋	0.4	0.8	1.1	1.2	0.9	0.9	0.6	0.4	0.2	BQL
皮膚（非有色）	1.7	4.1	3.0	2.1	2.0	1.2	1.1	0.7	0.2	BQL
小腸	2.2	3.0	4.9	5.3	4.5	3.7	2.2	1.1	0.4	BQL
小腸（内容物）	19.7	91.3	301.9	34.4	9.5	7.4	4.8	0.4	BQL	BQL
脊髄	BQL	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	BQL
脾臓	1.2	2.7	5.8	6.1	6.2	5.3	4.8	1.8	0.8	0.5
胃（内容物）	BQL	37.4	2.1	0.2	3.2	0.1	BQL	BQL	BQL	BQL
胃（胃粘膜）	2.0	2.9	3.8	5.2	7.3	5.8	5.4	2.4	1.0	0.3
皮下投与部位	5607.7	5485.1	3209.4	3119.1	3069.6	2239.1	524.5	344.1	217.6	37.2
精巣	0.7	2.0	3.3	2.5	2.4	2.2	1.5	0.7	0.2	BQL
胸腺	0.5	0.9	2.5	3.6	5.4	4.2	3.6	2.2	0.4	BQL
甲状腺	4.1	9.3	15.4	18.3	13.7	13.1	12.2	1.2	0.8	BQL
膀胱	3.9	9.4	9.9	13.6	10.7	9.5	9.1	0.3	0.3	BQL
膀胱（貯尿）	1991.4	2505.1	71.8	20.5	14.3	8.0	4.3	0.3	BQL	BQL

Source: 4.2.2.2-3-508-1716-Table 8
BQL：定量限界（0.101 μg equiv/g）未満

各組織における PKパラメータを Table 4-6 に示す。ほとんどの組織（45 組織中 28 組織）における放射能の Tmax は投与後 24～72 時間の範囲で観察された。皮下投与部位，肝臓，及び腎臓の Cmax 及び薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）の値は，通常，他の組織よりも少なくとも 10 倍大きかった。すべての組織からの放射能の消失は比較的遅く，すべての組織の半減期は 100 時間を超えていた。500 時間以上の組織中半減期は，血液（心臓，1304.7 時間），脳（延髄，1105.9 時間），眼（ブドウ膜，1070.8 時間），副腎（725.2 時間），副腎髄質（618.6 時間），脾臓（606.7 時間），脊髄（553.1 時間），胃（胃粘膜，531.6 時間），及び皮下投与部位（526.1 時間）で確認された。2 組織（大脳及び眼の水晶体）の放射能半減期は，十分な評価時点数が得られず，算出できなかった。標的臓器である肝臓の半減期は 270.6 時間であった。

Table 4-6　雄ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度の PK パラメータ

組織	Tmax (h)	Cmax (μg equiv/g)	AUCall (h·μg equiv/g)	AUCinf (h·μg equiv/g)	T1/2 (h)
脂肪（褐色）	4	4.9	1578.3	1507.0	234.8
脂肪（白色）	72	1.2	319.0	376.6	369.7
副腎	72	6.6	2388.4	2555.8	725.2
副腎（皮質）[a]	72	5.6	1733.1	1928.8	1059.7
副腎（髄質）	72	10.0	5112.5	5378.5	618.6
血液（心臓）	1	10.0	338.6	475.5	1304.7
骨[a]	72	1.4	718.6	965.0	1034.4
骨髄	72	16.3	7663.4	7821.1	479.3

組織	Tmax (h)	Cmax (µg equiv/g)	AUCall (h·µg equiv/g)	AUCinf (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)
脳（小脳）[a]	120	0.3	186.2	323.1	670.0
脳（大脳）[a]	336	0.4	256.6	ND	ND
脳（延髄）	4	0.3	103.7	248.1	1105.9
盲腸	24	21.4	8271.7	8248.8	450.5
精巣上体	24	4.6	2305.0	2228.4	360.1
食道	24	4.6	1908.4	1858.1	151.6
眼（水晶体）[a]	24	0.3	21.3	ND	ND
眼（ブドウ膜）	24	2.5	973.5	1328.3	1070.8
ハーダー腺	72	15.9	11998.7	12397.5	454.7
心臓	4	4.3	1843.5	1784.1	207.9
腎臓（皮質）	24	383.0	103723.6	104637.2	359.6
腎臓（髄質内層）	1	25.9	1616.2	1567.0	189.3
腎臓（髄質）	72	43.3	15291.5	15534.5	403.0
腎臓（髄質外層）	24	69.6	22631.5	22731.9	312.0
大腸	24	18.7	8769.5	8352.6	270.1
肝臓[a]	24	652.6	119910.9	120010.8	270.6
肺	4	2.4	980.6	932.5	199.0
リンパ節	72	18.3	7166.3	6835.9	287.5
乳腺領域	24	4.4	2051.7	1970.9	184.2
口腔粘膜[a]	120	5.4	1625.1	1752.4	634.8
膵臓	120	13.7	10237.8	10477.3	417.0
脳下垂体	72	3.9	1457.0	1841.2	391.6
包皮腺	120	13.4	6021.0	5729.0	249.5
前立腺	72	6.3	1821.1	1754.7	189.5
唾液腺	72	17.9	9612.0	9691.9	333.4
精嚢	72	2.5	845.9	855.1	155.0
骨格筋	72	1.2	686.4	670.0	396.1
皮膚（非有色）	4	4.1	1164.8	1129.1	338.9
小腸	72	5.3	2369.8	2263.2	284.0
脊髄	120	0.4	275.4	289.7	553.1
脾臓	120	6.2	4242.9	4637.7	606.7
胃（胃粘膜）	120	7.3	4623.8	4875.3	531.6
皮下投与部位	1	5607.7	1181549.6	1209768.2	526.1
精巣	24	3.3	1372.1	1320.7	229.3
胸腺	120	5.4	3015.5	2900.4	260.6
甲状腺	72	18.3	7757.9	7451.2	188.4
膀胱	72	13.6	5264.5	5140.9	149.4

Source: 4.2.2.2-3-508-1716-Table 9

AUCall：時間 0 から最終測定時間までの薬物濃度-時間曲線下面積，ND：決定できず（データから値を判断できず），T1/2：見かけの終末相消失半減期

[a] これら組織・臓器の T1/2 及び AUCinf 値は，不十分な時点数から得られたか，及び／又は得られた r^2 値が許容基準（≥0.85）から外れているため，これらの値は推定値と見なす必要がある。

4.4 サルにおける非標識インクリシランの組織分布

雌雄カニクイザルに 6 mg/kg を単回静脈内投与したとき，1，3，及び 6 mg/kg を単回皮下投与したとき，負荷用量 6 mg/kg の単回皮下投与後，QM で 3.0 mg/kg を 3 回皮下投与したとき，並びに負荷用量 6 mg/kg の単回皮下投与後，Q2W で 3.0 mg/kg を 6 回皮下投与したときの肝臓，腎臓，及び心臓におけるインクリシランの組織分布を評価した[Table 2.6.5.1-8299434]。いずれの投与方法においても，腎臓及び心臓中にインクリシランは検出されなかった。すべての投与方法で，肝臓中にインクリシランが検出されたが，検出されたのは投与後 8 時間の 1 時点のみであった。投与後 8 時間において，6 mg/kg の皮下投与後の肝臓中濃度は，6 mg/kg の静脈内投与後の肝臓中濃度の約 16 倍であった。なお，より高用量が投与された重要な毒性試験においては，カニクイザルの肝臓，腎臓，及び心臓試料中にインクリシランが検出された[2.6.6-3.3.2 項]，[2.6.6-3.3.3 項]，[2.6.6-3.3.4 項]。

4.5 サルにおける ^{14}C-インクリシランの組織分布

175986 試験では，雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを 1.5 mL/kg の容量（目標用量：20 mg/kg）で単回皮下投与し，全身切片中の放射能を QWBA により測定した[Table 2.6.5.5D-175986]。

組織中の総放射能濃度を Table 4-7 に示す。すべての時間で高濃度の放射能が認められた組織は肝臓であり，次いで，初期の時点（投与後 4 時間）のみであったが腎臓中の放射能も高かった。すべての時点で放射能が低濃度，又はほとんど検出されなかった組織は，眼全体及び関連する組織（水晶体及びブドウ膜）であった。神経組織（脊髄及び脳）中の放射能も非常に低く，定量限界値をわずかに上回る程度の濃度であった。

Table 4-7 雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度（QWBA）

組織	総放射能（μg equiv/g）								
測定時間	1 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	336 h	672 h	1008 h
副腎皮質	2.7	4.6	14.2	13.3	9.0	8.4	12.7	5.7	3.6
副腎髄質	3.3	2.9	15.3	3.4	3.9	15.9	7.6	2.9	2.4
副腎全体	2.7	4.3	12.9	12.5	8.0	9.7	12.0	5.3	3.3
膀胱壁	12.1	2.1	4.0	4.1	5.5	6.0	4.1	8.6	ND
血液（心臓）	2.5	4.2	0.3	0.1	0.1	0.1[a]	0.2	0.2	0.1
骨髄	1.0	5.9	13.8	12.3	14.4	6.8	5.1	4.8	7.1
脳	0.0[a]	0.1	0.3	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	0.5
褐色脂肪	0.8	4.5	10.4	10.8	6.4	7.4	13.4	ND	ND
精巣上体	0.4	0.8	2.5	3.8	1.5	1.4	2.5	5.4	ND
眼（水晶体）	ND	ND	0.2	0.2	0.4	0.0[a]	0.2	0.2	0.3

組織	総放射能（μg equiv/g）								
測定時間	1 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	336 h	672 h	1008 h
眼（ブドウ膜）	1.0	2.3	3.7	3.2	2.6	3.9	3.9	1.8	3.2
眼全体	0.1	0.3	0.5	0.4	0.4	0.7	0.6	0.2	0.3
胆嚢	2.8	37.1	78.2	12.3	9.4	3.7	7.6	5.1	4.6
ハーダー腺	NP	NP	NP	NP	NP	2.1	NP	NP	NP
心筋	0.5	3.1	4.1	4.3	4.2	3.8	4.7	4.2	3.8
腎皮質	9.0	35.2	17.2	15.5	20.1	7.4	7.3	7.4	4.0
腎髄質	7.1	20.9	8.1	2.4	3.6	1.5	2.3	3.0	2.0
腎錐体	19.3	351.4	3.1	1.9	NP	1.9	2.1	2.5	2.0
腎臓全体	9.0	46.3	13.4	11.9	17.6	5.7	6.3	6.6	3.1
大腸壁	1.0	6.0	17.6	11.7	9.6	7.2	10.2	5.9	5.1
肝臓	18.1	93.7	283.1	326.6	274.3	168.9	224.0	165.5	177.1
肺	3.0	6.6	1.4	0.7	0.7	0.6	0.6	0.5	0.7
リンパ節	1.8	14.9	20.7	NP	66.2	43.8	30.9	38.2	NP
膵臓	0.7	3.0	6.1	4.6	10.8	7.3	12.8	18.2	13.7
前立腺	0.9	2.2	4.4	4.0	3.9	2.9	10.8	2.1	NP
直腸壁	1.7	5.3	11.5	13.1	10.4	7.7	7.5	5.8	3.8
唾液腺	0.5	2.0	5.5	6.9	6.1	11.2	5.7	8.8	8.5
精嚢	0.6	NM	2.9	3.9	3.1	3.5	NP	2.3	ND
骨格筋	0.1	0.4	0.9	1.0	0.9	0.8	1.0	1.1	1.0
皮膚	0.2	1.9	3.5	2.8	3.6	3.9	3.4	2.6	0.8
小腸壁	1.3	4.2	13.1	12.0	10.5	7.7	7.7	5.0	4.6
脊髄	0.0[a]	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1[a]	0.5	0.3	0.4
脾臓	1.0	6.2	12.2	10.1	11.7	4.7	5.9	6.9	5.2
胃壁（gastric）	1.2	5.3	4.8	4.6	6.8	4.1	6.4	5.4	5.7
胃壁（non-gastric）	ND	3.8	ND	ND	ND	ND	8.0	ND	ND
精巣	0.6	2.6	6.2	4.6	3.9	8.2	13.7	5.7	3.2
胸腺	1.1	3.4	6.2	ND	11.1	8.0	4.9	6.4	3.2
甲状腺	1.0	1.9	5.2	5.6	3.7	6.3	2.5	2.6	NP
白色脂肪	0.1	1.1	2.7	0.2	1.0	0.2	0.2	0.8	0.3
定量限界値	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1

Source: 4.2.2.2-4-175986-Table 6

ND：識別できず（可視化のための組織中放射能濃度が不十分），NM：測定できず，NP：存在せず

[a] 信頼性のある定量限界値未満

PKパラメータをTable 4-8に示す。Cmaxの値から，肝臓及び腎錐体が最も高い放射能濃度を示し，どちらも同程度の値であった（それぞれ，327及び351 μg equiv/g）。次に高い濃度を示した組織は胆嚢であり（78.2 μg equiv/g），肝臓及び腎臓の約1/4であった。Tmaxはすべての組織で1～672時間の範囲内であり，肝臓及び腎臓では，それぞれ72及び4時間であった。肝臓のAUClast（200000 h·μg equiv/g）は，リンパ節（25100 h·μg equiv/g）の約8倍高かった。腎臓の皮

質，全体，錐体，及び髄質の値は，それぞれ 8510，7360，6280，及び 2900 h·µg equiv/g であった。放射能の滞留時間が長いため，大部分の組織で正確な半減期を算出することはできなかったが，肝臓及び腎臓の半減期は，それぞれ約 1980 及び 657 時間であった。QWBA の最終測定時点（投与後 1008 時間）においても，すべての組織で放射能が検出された。

Table 4-8　雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したときの組織中総放射能濃度の PK パラメータ

組織	Tmax (h)	Cmax (µg equiv/g)	AUClast (h·µg equiv/g)	AUCinf (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)	Tlast (h)
副腎皮質	24	14.2	8240	10200	369	1008
副腎髄質	168	15.9	5920	7320	404	1008
副腎全体	24	12.9	7880	9600	361	1008
膀胱壁	1	12.1	3770	NC	NC	672
血液（心臓）	4	4.20	208	304[a]	672[a]	1008
骨髄	120	14.4	6650	NC	NC	1008
脳	672	0.500	415	NC	NC	1008
褐色脂肪	336	13.4	3160	NC	NC	336
精巣上体	672	5.40	2040	NC	NC	672
眼（水晶体）	120	0.400	204	NC	NC	1008
眼（ブドウ膜）	168	3.90	2980	13800[a]	2350[a]	1008
眼全体	168	0.700	403	694[a]	672[a]	1008
胆嚢	24	78.2	8930	15100[a]	928[a]	1008
ハーダー腺	168	2.10	ND	ND	ND	168
心筋	336	4.70	4230	16200[a]	2190[a]	1008
腎皮質	4	35.2	8510	13000[a]	774[a]	1008
腎髄質	4	20.9	2900	12500[a]	3330[a]	1008
腎錐体	4	351	6280	33800[a]	9550[a]	1008
腎臓全体	4	46.3	7360	10300[a]	657[a]	1008
大腸壁	24	17.6	7880	12800[a]	672[a]	1008
肝臓	72	327	200000	706000[a]	1980[a]	1008
肺	4	6.60	698	2560[a]	1840[a]	1008
リンパ節	120	66.2	25100	293000[a]	4860[a]	672
膵臓	672	18.2	13400	NC	NC	1008
前立腺	336	10.8	3940	NC	NC	672
直腸壁	72	13.1	6890	10600[a]	685[a]	1008
唾液腺	168	11.2	7870	NC	NC	1008
精嚢	72	3.90	1990	5470[a]	1050[a]	672
骨格筋	672	1.10	1000	NC	NC	1008
皮膚	168	3.90	2730	3110	322	1008
小腸壁	24	13.1	6800	12800[a]	904[a]	1008
脊髄	336	0.500	326	NC	NC	1008
脾臓	24	12.2	6720	34400[a]	3690[a]	1008

組織	Tmax (h)	Cmax (µg equiv/g)	AUClast (h·µg equiv/g)	AUCinf (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)	Tlast (h)
胃壁（gastric）	120	6.80	5600	38700 [a]	4020 [a]	1008
胃壁（non-gastric）	336	8.00	ND	ND	ND	336
精巣	336	13.7	7440	8920	320	1008
胸腺	120	11.1	5570	10600 [a]	1090 [a]	1008
甲状腺	168	6.30	2390	NC	NC	672
白色脂肪	24	2.70	553	5500 [a]	11500 [a]	1008

Source: 4.2.2.2-4-175986-Table 7

組織ごとに，9 時点の測定濃度（n = 1／時点）から算出

NC：算出できず（見かけの終末消失相を適切に設定できなかったため），ND：決定できず（連続した 3 時点以上で濃度を定量できなかったため），T1/2：見かけの終末相消失半減期，Tlast：最終定量可能時間

[a] 消失相の決定係数が 0.800 未満，及び／又は AUC の外挿部分の面積が実測 AUC の 20%超

4.6 胎盤通過

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験でインクリシランの胎盤通過を検討した。妊娠ラット（n = 9／群）にインクリシラン 50，100，及び 150 mg/kg を 12 日間（妊娠 6 日から妊娠 17 日）反復皮下投与したとき，母動物における Cmax 及び AUClast は概ね用量に比例して増加した。いずれの用量でも胎児血漿中インクリシラン濃度は定量可能であった。投与後 1 時間における胎児／母動物血漿中濃度比は 0.0065～0.016 の範囲であった[Table 2.6.5.7A-9001072]。

妊娠ウサギ（n = 3／群）にインクリシラン 50，100，及び 150 mg/kg を 13 日間（妊娠 7 日から妊娠 19 日）反復皮下投与したとき，母動物における Cmax 及び AUClast は概ね用量に比例して増加した。投与後 24 時間における胎児血漿中インクリシラン濃度は，いずれの用量でも BQL であった[Table 2.6.5.7B-9001073]。

5 代謝（動物種間の比較）

- インクリシランは比較的安定であり，すべての試料中の主要成分として 2 本鎖未変化体である AS 鎖及び S 鎖が確認された。
- インクリシランの AS 鎖は，主に AS(n-1)3’及び AS(n-1)5’に代謝され，S 鎖の主要な代謝物は 3’末端の GalNAc 残基部分の切断により生成したものである。

5.1 *In vitro* 代謝

C57BL/6 マウス，Sprague-Dawley ラット，カニクイザル，及びヒトのプール血清及び肝 S9 画分を用いて，インクリシランの *in vitro* 代謝安定性を評価した[Table 2.6.5.10A-BA14008]。

マウス，ラット，サル，及びヒトの血清中でインクリシランを 37°C，24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，82%，72%，及び 80%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 95%，91%，91%，及び 87%であった。マウス，ラット，サル，及びヒトの肝 S9 画分中でインクリシランを 37°C，24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，43%，63%，及び 41%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 94%，64%，87%，及び 71%であった。

血清及び肝 S9 画分中でインキュベーションしたときのインクリシランの *in vitro* 代謝プロファイルは，動物種間で類似していた。AS 鎖は，初期の時点で主に AS(n-1)3’及び AS(n-1)5’に代謝された。遅い時点では，肝 S9 画分とのインキュベーションにより AS(n-4)5’及び AS(n-5)5’が観察された。S 鎖に関しては，3’末端に存在する GalNAc 残基が，エキソヌクレアーゼによる代謝から 3’末端を保護する立体的効果を有しているため，比較的安定である。しかし，遅い時点では，糖部分が GalNAc リンカーから順次切断された代謝物が観察された。

5.2 ラット及びサルにおける *in vivo* 代謝

ラット及びサルに非標識インクリシランを投与したときの血漿及び肝臓における限定的な *in vivo* 代謝プロファイル，並びにラット及びサルに放射性標識 ^{14}C-インクリシランを投与したときのより広範な代謝プロファイルを評価した。

5.2.1 非標識インクリシランを用いたラット及びサルの *in vivo* 代謝

BA14008 試験では，Sprague-Dawley ラットに 25 mg/kg の用量で，カニクイザルに 6 mg/kg の用量で非標識インクリシランを単回皮下投与した[Table 2.6.5.1-BA14008]。

血漿及び肝臓試料の *in vivo* における代謝プロファイリングにより，ラット及びサルの血漿及び肝臓では類似した代謝物の生成が示された。AS 鎖は主に AS(n-1)3’又は AS(n-1)5’に代謝された。AS 鎖の 5’及び 3’末端には同じヌクレオチド（2’-OMe-アデノシン）が存在しており，AS(n-1)3’と AS(n-1)5’は区別できない。サルの肝臓では，AS 鎖のエキソヌクレアーゼによる連続的な代謝の結果，AS(n-6)5’及び AS(n-7)5’代謝物が生成した。S 鎖は，3’末端から 3 つの GalNAc 残基の切断により，わずかに代謝された。S 鎖のその他の主要代謝物は確認されず，GalNAc 残基が S 鎖をエキソヌクレアーゼ活性から保護している可能性がある。S 鎖の 3’末端における，その後の連続的なエキソヌクレアーゼ作用によって生成した微量代謝物も確認された。

5.2.2 ラットにおける ^{14}C-インクリシランの代謝プロファイル

雄 Sprague-Dawley ラット（n = 1～6）に ^{14}C-インクリシランを 65 mg/kg の用量で単回皮下投与した 508-1716 試験で採取した血漿，尿，胆汁，糞，肝臓，腎臓，及び投与部位におけるインクリシランの代謝物の同定及び定量を実施した[Table 2.6.5.9A-508N-1717]。

インクリシランは非常に安定であり，すべての生体試料中の主要な成分は未変化体であった。ただし，限定的な代謝が，各生体試料中でさまざまな程度で確認された。主に AS 鎖の 5’及び 3’末端での連続的なエキソヌクレアーゼ作用により生成した合計 18 種類の AS 鎖代謝物が同定された。

各代謝物の構造並びに各生体試料中での存在有無を Table 5-1 に，推定代謝経路を Figure 5-1 に示す。代謝物のサイズは，AS(n-1)から AS(n-10)の範囲であった。AS 鎖の代謝物は，尿及び腎臓で 11 種類と最も多く，次いで胆汁の 10 種類，投与部位の 8 種類，糞及び肝臓の 6 種類，並びに血漿の 5 種類であった。他の生体試料と比較して，尿，胆汁，糞，及び腎臓では，ヌクレオチド

が 5’及び 3’末端の両方から，より切断された代謝物が認められた。尿では，次第に鎖長が短くなり最終的に最も短い AS(n-10)3’に到達する一連の代謝物が，胆汁，糞，及び腎臓では，最終的に最も短い AS(n-9)5’に到達する一連の代謝物が認められた。エキソヌクレアーゼ及びエンドヌクレアーゼの双方が作用した結果として，より鎖長の短い代謝物が生成した可能性がある。たとえば，AS(n-4)phos5’から AS(n-6)phos5’までの代謝物と比較して，AS(n-4)3’から AS(n-8)3’までの代謝物の質量スペクトルの応答がわずかに高く，これは，エンドヌクレアーゼ活性により AS 鎖の一部が内部で切断されたと考えられる。AS-DS 代謝物は投与部位の試料でのみ検出されたが，組織試料の保管中に末端から 2 番目の硫黄が酸素によって置換されて生成した分解物と考えられた。

Table 5-1　　ラットにおけるインクリシランの AS 鎖代謝物

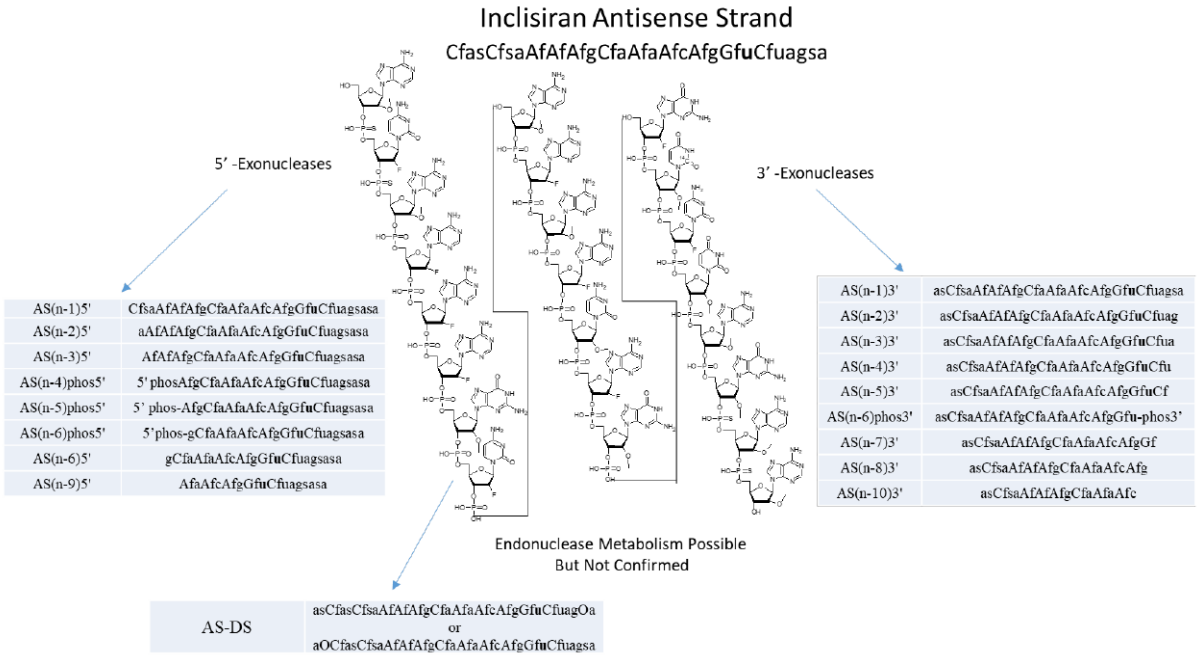
代謝物	配列	尿	血漿	胆汁	糞	肝臓	腎臓	投与部位
AS 未変化体	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
AS(n-1)5'	CfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
AS(n-1)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsa	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
AS(n-2)5'	aAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	Trace	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-2)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuag	検出	Trace	検出	ND	Trace	ND	ND
AS(n-3)5'	AfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND	検出	ND
AS(n-3)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfua	検出	ND	ND	ND	ND	ND	ND
AS(n-4)phos5'	5'phos-AfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	ND	ND	ND	ND	検出	ND	ND
AS(n-4)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfu	ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出
AS(n-5)phos5'	5’phos-AfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND	検出	ND
AS(n-5)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCf	ND	ND	検出	検出	ND	検出	ND
AS(n-6)phos5'	5’phos-gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND	ND	ND
AS(n-7)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf	ND	ND	検出	ND	検出	検出	検出
AS(n-6)5'	gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	Trace	検出	ND	ND	検出	検出
AS(n-6)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfu-phos3’	ND	ND	ND	検出	ND	ND	ND
AS(n-8)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfg	Trace	ND	検出	検出	ND	検出	検出
AS(n-9)5'	AfaAfcAfgGfuCfuagsasa	ND	ND	検出	検出	ND	検出	Trace
AS(n-10)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfc	検出	ND	Trace	ND	検出	ND	ND
AS-DS	aOCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa or asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsaOa	ND	ND	ND	ND	ND	ND	検出

Source: 4.2.2.4-2-508N-1717-Table R-1

AS：アンチセンス，DS：脱スルホキシド，ND：検出されず，Trace：定量可能な濃度を下回ったが検出

配列略号，a：2’-OMe-アデノシン，Af：2’-デオキシ-2’-フルオロアデノシン，c：2’-OMe-シチジン，Cf：2’-デオキシ-2’-フルオロシチジン，g：2’-OMe-グアノシン，Gf：2’-デオキシ-2’-フルオログアノシン，phos：末端リン酸基，s：ホスホロチオエート結合，u：2’-O-メチルウリジン，u：[4-^{14}C]-2’-OMe-ウリジン

Figure 5-1　　ラットにおけるインクリシランの AS 鎖推定代謝経路



Source: 4.2.2.4-2-508N-1717-Scheme 1

各生体試料中の AS 鎖未変化体，並びに 2 種類の主要代謝物である AS(n-1)及び AS(n-2)の濃度を測定した（Table 5-2）。AS(n-1)はすべての生体試料で一貫して検出された唯一の代謝物であったが，AS 鎖未変化体よりも著しく低い濃度であった。各生体試料中の AS(n-1)の Cmax 値は，AS 鎖未変化体比として，血漿で 1/27.5，尿で 1/17.6，胆汁で 1/7.9，肝臓で 1/35.1，及び腎臓で 1/62.4 であった。AS(n-2)5'及び AS(n-2)3'は，どの時点においても血漿，糞，胆汁，肝臓，及び腎臓中に定量可能な濃度で検出されなかった。AS(n-2)3'は，8～24 時間の尿中に検出されたが，定量限界（15 ng/mL）をわずかに超える程度の濃度であった。その他の AS 鎖代謝物は量的に少なく，代謝プロファイル全体での存在比率は小さかった。

Table 5-2　　ラットにおけるインクリシランの AS 鎖未変化体及び主要代謝物の Cmax 及び Tmax

生体試料	未変化体		AS(n-1)		AS(n-2)5'		AS(n-2)3'	
	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
血漿	1851	1	67.2	1	BQL	NA	BQL	NA
尿 [a]	35231	8-24	2004	8-24	BQL	NA	52.7	8-24
糞 [a]	25.2	0-24	BQL	NA	BQL	NA	BQL	NA
胆汁	13817	8-24	1753	8-24	BQL	NA	BQL	NA
肝臓	17883	24	509	24	BQL	NA	BQL	NA
腎臓	4650	4	74.5	72	BQL	NA	BQL	NA

Source: Table 2.6.5.9A-508N-1717

BQL：定量限界（15 ng/mL）未満，NA：該当なし

[a] 尿及び糞は，胆管カニューレーション処置群及び未処置群の平均値。どちらかの群が定量限界を下回った場合，BQL と表示。

S 鎖では，主に 3’末端の L96 GalNAc 残基の切断に関連した 12 種類の代謝物が同定された。各代謝物の構造並びに各生体試料中での存在有無を Table 5-3 に，推定代謝経路を Figure 5-2 に示す。最初に 3 つの GalNAc 部分が切断され，その後，関連するリンカー部分が順次失われる。末端 L96 部分全体が切断された後，3’末端からヌクレオチド及び短いオリゴヌクレオチド鎖が連続的に切断される。さらに，代謝物 S(n-1)5’-1Gal が検出されていることから，S 鎖の 5’末端はわずかに代謝されると考えられた。

Table 5-3　　ラットにおけるインクリシランの S 鎖代謝物

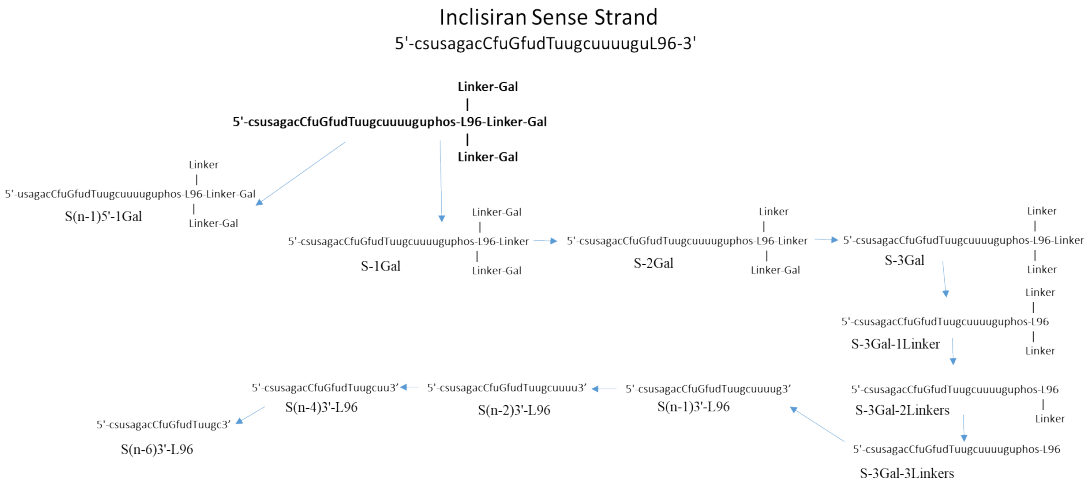
代謝物	配列	尿	血漿	胆汁	糞	肝臓	腎臓	投与部位
S	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3'	検出	検出	検出	検出	ND	ND	検出
S-1Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 1Gal	検出	検出	ND	検出	ND	ND	ND
S-2Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 2Gal	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
S-3Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	検出	ND	検出	ND	ND	Trace
S(n-1)5'-1Gal	5'-usagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 1Gal	ND	ND	ND	検出	ND	ND	ND
S-3Gal-3 L	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
S-3Gal-1 L	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
S-3Gal-2 L	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	検出	検出	ND	検出	検出	検出
S(n-1)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuug3'	ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出
S(n-2)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuu3'	ND	ND	ND	ND	ND	ND	検出
S-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu3'	ND	ND	ND	ND	ND	ND	検出
S(n-4)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuu3'	ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出
S(n-6)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugc3'	検出	ND	検出	ND	検出	検出	検出

Source: 4.2.2.4-2-508N-1717-Table R-2

L：リンカー，ND：検出されず，S：センス，Trace：定量可能な濃度を下回ったが検出

配列略号，a：2’-OMe-アデノシン，Af：2’-デオキシ-2’-フルオロアデノシン，c：2’-OMe-シチジン，Cf：2’-デオキシ-2’-フルオロシチジン，dT：デオキシチミン，g：2’-OMe-グアノシン，Gal：ガラクトース，Gf：2’-デオキシ-2’-フルオログアノシン，L96：専有 GalNAc 基，phos：末端リン酸基，s：ホスホロチオエート結合，u：2’-O-メチルウリジン，u：[4-^{14}C]-2’-OMe-ウリジン

Figure 5-2　　ラットにおけるインクリシランの S 鎖推定代謝経路



Source: 4.2.2.4-2-508N-1717-Scheme 2

質量スペクトルの結果から，主要代謝物を除くと，他のすべての AS 鎖及び S 鎖の代謝物は投与量の 1%を大きく下回る曝露量レベルであったことが示唆される。

5.2.3　　サルにおける ^{14}C-インクリシランの代謝

雄カニクイザル（n = 12）に ^{14}C-インクリシランを 20 mg/kg の用量で単回皮下投与した 175986 試験の血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓におけるインクリシラン代謝物の同定及び定量を実施した [Table 2.6.5.9B-508N-1722]。

インクリシランは非常に安定であり，すべての生体試料中の主要な成分は未変化体であった。ただし，各生体試料中で限定的な代謝が確認された。5 種類の生体試料全体で，合計 35 種類の AS 鎖代謝物が同定された。各代謝物の構造並びに各生体試料中での存在有無を Table 5-4 に，推定代謝経路を Figure 5-3 に示す。糞を除くすべての生体試料中の主要な成分は AS 鎖未変化体であった。糞では，定量可能な量の未変化体及び代謝物は検出されなかった。尿では，すべての生体試料中で最も多くの代謝物（35 種類）が検出され，AS(n-19)5’に至るヌクレオチド及び短鎖オリゴヌクレオチドの切断による微量代謝物が確認された。肝臓では，AS(n-9)3’に至るヌクレオチドの切断による 2 番目に多い代謝物（19 種類）が確認された。血漿及び腎臓では，主に代謝物 AS(n-1)及び AS(n-2)が確認された。代謝物の多くは，エキソヌクレアーゼの作用により，3’及び 5’末端の両方から末端ヌクレオチドが順次切断して生成したと考えられる。他の生体試料と比較して，尿及び肝臓では，AS 鎖の両端からヌクレオチドがより広範に切断した代謝物が含まれていた。特に尿では，最終的に AS(n-19)5’代謝物に至る順次鎖長が短くなる一連の代謝物が含まれ，肝臓では，最終的に AS(n-9)3’代謝物に至る一連の短鎖代謝物が含まれていた。尿及び肝臓で認められたこれらの代謝物のいくつかは，エキソヌクレアーゼ及びエンドヌクレアーゼの双方が作用した結果として生成した可能性が考えられる。たとえば，AS(n-19)phos5’から AS(n-4)phos5’までの代謝物と比較して，AS(n-4)3’から AS(n-18)までの代謝物の質量スペクトルの応答がわずかに

高く，これは，エンドヌクレアーゼ活性により AS 鎖の一部が内部で切断され，いくつかの短鎖代謝物が生成されたと考えられた。

Table 5-4 サルにおけるインクリシランの AS 鎖代謝物

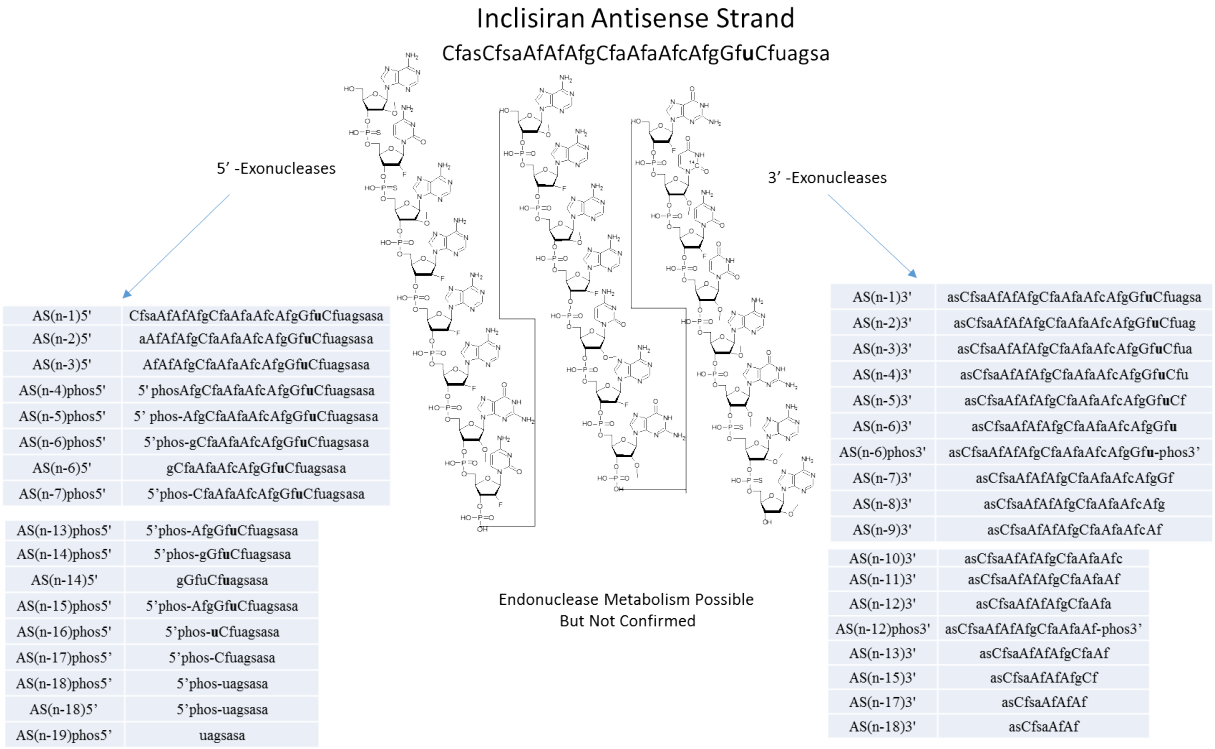
代謝物	配列	尿	血漿	糞	肝臓	腎臓
AS	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	trace	検出	検出
AS(n-1)5'	CfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	trace	検出	検出
AS(n-1)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsa	検出	検出	ND	検出	検出
AS(n-2)5'	aAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	trace	検出	ND
AS(n-2)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuag	検出	検出	ND	検出	検出
AS(n-3)5'	AfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	trace	ND
AS(n-3)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfua	検出	ND	ND	trace	ND
AS(n-4)phos5'	5' phos-AfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-4)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfu	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-5)phos5'	5’ phos-AfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	ND	検出	ND
AS(n-5)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCf	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-6)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfu	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-6)phos5'	5’phos-gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	検出	ND	ND	ND
AS(n-7)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf	検出	検出	ND	検出	検出
AS(n-6)5'	gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	trace	検出	ND	検出	ND
AS(n-6)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfu-phos3’	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-8)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfg	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-9)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAf	検出	ND	ND	検出	ND
AS(n-7)phos5'	5’phos-CfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-10)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfc	検出	ND	ND	trace	ND
AS(n-11)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-12)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfa	検出	ND	ND	trace	ND
AS(n-13)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAf	検出	ND	ND	trace	ND
AS(n-12)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf-phos3’	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-13)phos5'	5’phos-AfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-14)phos5'	5’phos-gGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-14)5'	gGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-15)phos5'	5’phos-AfgGfuCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-15)3'	asCfsaAfAfAfgCf	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-16)phos5'	5’phos-uCfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-17)3'	asCfsaAfAfAf	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-17)phos5'	5’phos-Cfuagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-18)phos5'	5’phos-uagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-18)3'	asCfsaAfAf	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-18)5'	uagsasa	検出	ND	ND	ND	ND
AS(n-19)phos5'	5’phos-agsasa	検出	ND	ND	ND	ND

Source: 4.2.2.4-3-508N-1722-Table S-1

AS：アンチセンス，ND：検出されず，trace：定量可能な濃度を下回ったが検出

配列略号，a：2’-OMe-アデノシン，Af：2’-デオキシ-2’-フルオロアデノシン，c：2’-OMe-シチジン，Cf：2’-デオキシ-2’-フルオロシチジン，g：2’-OMe-グアノシン，Gf：2’-デオキシ-2’-フルオログアノシン，phos：末端リン酸基，s：ホスホロチオエート結合，u：2’-O-メチルウリジン，u：[4-^{14}C]-2’-OMe-ウリジン

Figure 5-3　　サルにおけるインクリシランの AS 鎖推定代謝経路



AS(n-1)5'	CfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-2)5'	aAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-3)5'	AfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-4)phos5'	5' phosAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-5)phos5'	5’ phos-AfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-6)phos5'	5’phos-gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-6)5'	gCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-7)phos5'	5’phos-CfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa
AS(n-13)phos5'	5’phos-AfgGfuCfuagsasa
AS(n-14)phos5'	5’phos-gGfuCfuagsasa
AS(n-14)5'	gGfuCfuagsasa
AS(n-15)phos5'	5’phos-AfgGfuCfuagsasa
AS(n-16)phos5'	5’phos-uCfuagsasa
AS(n-17)phos5’	5’phos-Cfuagsasa
AS(n-18)phos5’	5’phos-uagsasa
AS(n-18)5’	5’phos-uagsasa
AS(n-19)phos5’	uagsasa

AS(n-1)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsa
AS(n-2)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuag
AS(n-3)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfua
AS(n-4)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfu
AS(n-5)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCf
AS(n-6)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfu
AS(n-6)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfu-phos3’
AS(n-7)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf
AS(n-8)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfg
AS(n-9)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAf
AS(n-10)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfc
AS(n-11)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf
AS(n-12)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfa
AS(n-12)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf-phos3’
AS(n-13)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAf
AS(n-15)3'	asCfsaAfAfAfgCf
AS(n-17)3'	asCfsaAfAfAf
AS(n-18)3'	asCfsaAfAf

Source: 4.2.2.4-3-508N-1722-Scheme 1

各生体試料中の AS 鎖未変化体及び主要代謝物 AS(n-1)及び AS(n-2)の濃度を測定した（Table 5-5）。AS(n-1)は主要な AS 鎖代謝物であり，血漿，尿，肝臓，及び腎臓中に存在する唯一の代謝物であったが，AS 鎖未変化体よりも濃度は低かった。各生体試料中の AS(n-1)の Cmax 値は，AS 鎖未変化体比として，血漿で 1/24，尿で 1/2.5，肝臓で 1/9.5，及び腎臓で 1/13.7 であった。代謝物 AS(n-2)5’は，尿及び肝臓中にのみ非常に低濃度で検出され，代謝物 AS(n-2)3’は，定量限界（15 ng/mL）をわずかに上回る濃度で肝臓中にのみ認められた。その他の AS 鎖代謝物は量的に少なく，代謝プロファイル全体での存在比率は小さかった。

Table 5-5　　サルにおけるインクリシランの AS 鎖未変化体及び主要代謝物の Cmax 及び Tmax

生体試料	未変化体		AS(n-1)		AS(n-2)5’		AS(n-2)3’	
	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
血漿	1407	4	58.0	4	BQL[a]	NA	BQL[a]	NA
尿	7723	0-8	3112	8-24	52.1	0-8	BQL[c]	NA

生体試料	未変化体		AS(n-1)		AS(n-2)5'		AS(n-2)3'	
	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
肝臓	5553	24	586.2	24	100.5	672	30.3	4
腎臓	296.6	4	21.6	24	BQL[b]	NA	BQL[c]	NA

Source: Table 2.6.5.9B-508N-1722

NA：該当なし

[a] BQL: 10 ng/mL

[b] BQL: 13 ng/mL

[c] BQL: 15 ng/mL

S 鎖では，20 種類の代謝物が同定された。各代謝物の構造並びに各生体試料中での存在有無を Table 5-6に，推定代謝経路を Figure 5-4に示す。糞を除くすべての生体試料中の主要な成分は S鎖未変化体であった。糞では，定量可能な量の未変化体及び代謝物は確認されなかった。S 鎖の主要な代謝物は，3'末端の 3つの GalNAc残基の切断及び関連した 3つのリンカー部分の切断により生成したものであった。さらに，S(n-14)3'代謝物に至る 3'末端からの末端ヌクレオチド切断により生成した微量代謝物も検出された。5'末端で最初のヌクレオチドが切断した付随的な微量代謝物が存在する証拠も認められた。同定された代謝物の大部分は，尿中で確認され（15 種類），続いて肝臓でも多くの代謝物が確認された（11 種類）。血漿では，リンカー部分は切断されず，主に GalNAc 残基の切断により生成した代謝物が確認された。

S 鎖の主要な代謝経路は L96 GalNAc 末端基の変化から始まり，最初に 3 つの GalNAc 残基の切断により，S-1Gal，S-2Gal，及び S-3Gal が生成し，その後，関連するリンカー部分の連続的な切断が起こった。L96 末端基全体が切断された後，3'末端からヌクレオチド及び短いオリゴヌクレオチド鎖が切断された。S鎖の 5'末端がわずかに代謝され，GalNAc部分が切断された 3'代謝物から誘導される(n-1)5'代謝物がわずかに生成していると考えられた。

Table 5-6　　サルにおけるインクリシランの S 鎖代謝物

代謝物	配列	尿	血漿	糞	肝臓	腎臓
S 未変化体	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3'	検出	検出	trace	検出	検出
S-2Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 2Gal	検出	検出	ND	ND	ND
S-3Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	検出	trace	検出	検出
S-1Gal	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 1Gal	検出	検出	ND	ND	検出
S(n-1)5'-1Gal	5'-usagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' - 1Gal	trace	ND	ND	検出	ND
S-3Gal-3 Linker	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	検出	ND	ND	検出	検出
S(n-1)5'-1Gal-1Linker	5'-usagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3'-1Gal-1Linker	trace	ND	ND	検出	ND
S-3Gal-1 Linker	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	ND	ND	ND	検出	検出
S-3Gal-2 Linker	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuuguL96-3' -3Gal	ND	ND	ND	検出	ND
S(n-1)5'+Phos-L96	5'-Phos-susagacCfuGfUdTuugcuuuugu+Phos3'	検出	ND	ND	ND	ND
S(n-1)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuug3'	ND	ND	ND	検出	ND
S(n-2)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuu3'	ND	ND	ND	検出	ND

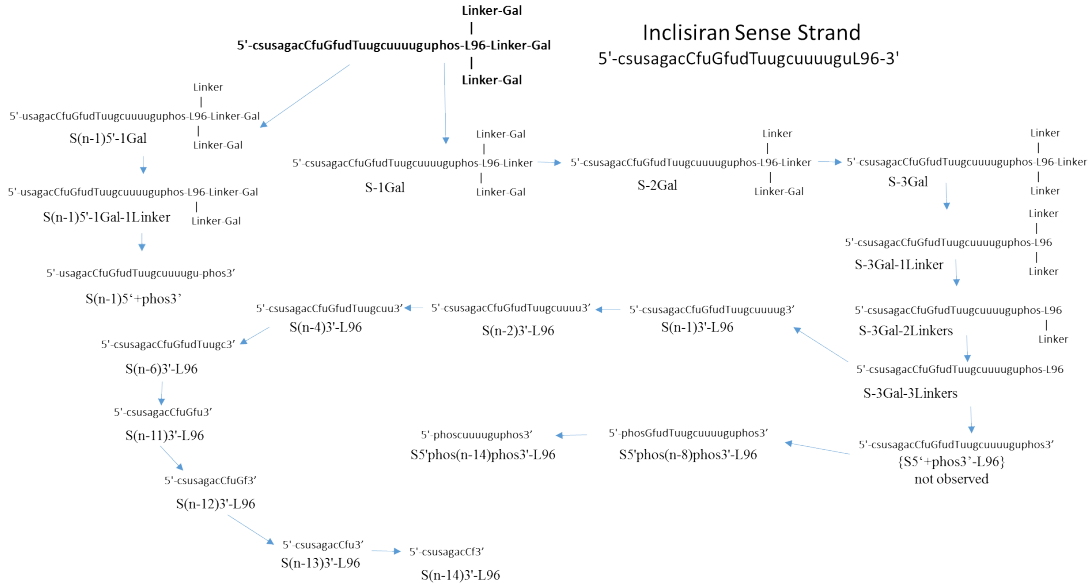
代謝物	配列	尿	血漿	糞	肝臓	腎臓
S(n-4)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugcuu3'	ND	ND	ND	検出	ND
S(n-6)3'-L96	5'-csusagacCfuGfudTuugc3'	検出	ND	ND	検出	ND
S5'phos(n-8)phos3'-L96	5'-Phos GfudTuugcuuuugu+phos3'	検出	ND	ND	検出	ND
S(n-11)3'-L96	5'-csusagacCfuGfu3'	検出	ND	ND	ND	ND
S(n-12)3'-L96	5'-csusagacCfuGf3'	検出	ND	ND	ND	ND
S(n-13) phos3'-L96	5'-csusagacCfu+phos3'	検出	ND	ND	ND	ND
S(n-13)3'-L96	5'-csusagacCfu3'	検出	ND	ND	ND	ND
S5'phos-S(n-14) phos3'-L96	5'-phos-cuuuugu+phos3'	検出	ND	ND	ND	ND
S(n-14)3'-L96	5'-csusagacCf3'	検出	ND	ND	ND	ND

Source: 4.2.2.4-3-508N-1722-Table S-2

ND：検出されず，S：センス，trace：定量可能な濃度を下回ったが検出

配列略号，a：2'-OMe-アデノシン，Af：2'-デオキシ-2'-フルオロアデノシン，c：2'-OMe-シチジン，Cf：2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン，dT：デオキシチミン，g：2'-OMe-グアノシン，Gal：ガラクトース，Gf：2'-デオキシ-2'-フルオログアノシン，L96：専有 GalNAc 基，Linker：専有基，phos：末端リン酸基，s：ホスホロチオエート結合，u：2'-O-メチルウリジン，u：[4-^{14}C]-2'-OMe-ウリジン

Figure 5-4　　サルにおけるインクリシランの S 鎖推定代謝経路



Source: 4.2.2.4-3-508N-1722-Scheme 2

6　　排泄

- 主要な排泄経路は，腎排泄である。
- 糞中排泄は，ラットで認められるが，サルでは認められない。
- サルでは投与量の約 50%が組織に保持される。

6.1 ラットにおける排泄試験

雌雄の Sprague-Dawley ラットにインクリシランを 25 mg/kg の用量で単回皮下投与し，投与後 0～8 時間，8～24 時間，及び 24～48 時間の尿及び糞を採取した（n = 5／性）[Table 2.6.5.13A-8301499]。腎排泄は，血漿からの主要な消失経路であった。投与後 0～8 時間の尿中に，総投与量の平均 31.8%（雄）及び 22.0%（雌）が排泄された。投与後 48 時間までのインクリシランの尿中総回収率は，平均 37.8%（雄）及び 25.4%（雌）であった。投与後 48 時間までの糞中に，総投与量の平均 13.0%（雄）及び 2.2%（雌）が排泄された。

雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C-インクリシランを 65 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの放射能のマスバランスを評価した[Table 2.6.5.13B-508-1716]。未処置の動物及び胆管カニューレーション処置（BDC）動物の 2 群から排泄物を採取した。

未処置群及び BDC 群での放射能の主要な排泄経路は尿中であった。未処置群では，投与後 8 時間までに投与量の平均 19.4%が尿中に排泄され，最終の 168 時間までに投与量の平均 29.4%が尿中に排泄された。BDC 群では，投与後 8 時間までに投与量の平均 17.2%が，最終の 96 時間までに投与量の平均 24.8%が尿中に排泄された。未処置群では，投与後 168 時間までに，糞中に投与量の平均 23.0%が，ケージ残留物中に投与量の平均 2.1%が回収され，投与後 168 時間の屍体中に投与量の平均 26.8%が残留していた。BDC 群では，投与後 96 時間までに，胆汁，糞，及びケージ残留物中に，それぞれ投与量の平均 19.6%，0.7%，及び 1.4%が回収され，投与後 96 時間の屍体中に投与量の平均 38.8%が残留していた。

未処置群及び BDC 群の放射能の総回収率は，それぞれ投与量の平均 81.5%及び 85.4%であった。

6.2 サルにおける排泄試験

雌雄のカニクイザル（n = 4／性）にインクリシランを 6 mg/kg の用量で単回皮下投与し，投与後 0～24 時間及び 24～48 時間に尿及び糞を採取した[Table 2.6.5.13C-8299434]。血漿からの主要な消失経路は，腎排泄であった。投与後 24 時間までに，投与量の約 16%（雄）及び 15%（雌）が尿中に排泄された。投与後 24～48 時間の尿中には，インクリシランが微量に確認されたのみである。評価した糞中には，インクリシランは検出されなかった。

雄カニクイザルに ^{14}C-インクリシランを 20 mg/kg の用量で単回皮下投与したときのマスバランスを評価した[Table 2.6.5.13D-175986]。5 例の動物から排泄物を採取した。

皮下投与後の放射能の排泄率は低く，投与後 24 時間までに投与量の平均 32.7%が回収された。尿では，投与後 8 時間までに投与量の平均 7%，投与後 24 時間までに投与量の平均 28.9%が排泄され，投与後 168 時間までに投与量の平均 31.7%が回収された。投与後 168 時間までの糞中排泄率は，投与量の平均 1.6%であった。投与後 168 時間までのケージ洗浄液及びケージ残渣を含めた平均総回収率は 41.9%であった。投与後 312～336 時間では，投与放射能の平均 0.5%が回収されたことから，総放射能の長期的な消失が示唆された。投与量に対する総回収率が低いことは，4.5 項に記載したように，組織中での保持が非常に長いためである。

6.3 乳汁中移行

授乳中のラット（n = 4／群）にインクリシラン 50，100，及び 150 mg/kg を妊娠 6 日から授乳 11 日まで反復皮下投与したとき，授乳 11 日の投与後 8 時間における母動物血漿中インクリシラン濃度は用量の増加に伴って上昇し，50，100，及び 150 mg/kg 群でぞれぞれ 1110，8470，及び 11200 ng/mL であった。乳汁中濃度は 50，100，及び 150 mg/kg 群でぞれぞれ 1170，3840，及び 3970 ng/mL であり，インクリシランの乳汁移行が認められた。投与後 1 及び 2 時間における乳児血漿中インクリシラン濃度はいずれの用量でも BQL であった[Table 2.6.5.7C-9001159]。

7 薬物動態学的薬物相互作用

CYP アイソザイム及びトランスポーターが関係する薬物相互作用の可能性を *in vitro* で評価した。

- インクリシランは，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5 に対して阻害作用を示さず，CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 に対する誘導作用もない。
- インクリシランは，*in vitro* でヒト OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，OCT3，OATP1B1，OATP1B3，MATE1，MATE2-K，MDR1，BCRP，又は BSEP によるプローブ基質の輸送を阻害せず，これらトランスポーターによる能動輸送を受けない。
- ヒトにおいて，インクリシランが関係する薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

7.1 *In vitro* における CYP 阻害及び誘導試験

プールしたヒト肝ミクロソーム（HLM）及び CYP 特異的マーカー基質反応を用いて，7 種類のヒト CYP アイソフォーム（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5）に対するインクリシランの直接的及び時間依存的阻害作用の可能性を評価した[Table 2.6.5.12A-319N-1401]。インクリシランは，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5 に対して直接的な阻害作用を示さなかった。また，インクリシランは，これら CYP に対して時間依存的阻害作用を示さなかった。

培養ヒト肝細胞を用いて，インクリシランが CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 を誘導する可能性を評価した[Table 2.6.5.12B-508N-1606]。その結果，インクリシランは CYP1A2，CYP2B6，CYP3A4 を誘導しないことが示唆された。

7.2 *In vitro* におけるトランスポーターに関する試験

インクリシランがトランスポーターの基質となる可能性，並びにトランスポーターを阻害する可能性を評価した[Table 2.6.5.15A-508N-1605]，[Table 2.6.5.15A-508N-1903]。508N-1605 試験では，ヒト MDR1／P-糖蛋白（P-gp），BCRP，OAT1，OAT3，OCT2，OATP1B1，OATP1B3，MATE1，及び MATE2-K に対する基質及び阻害作用を評価した。508N-1903 試験では，ヒト OCT1，OCT3，及び BSEP［ATP 結合カセット（ABC）B11］に対する基質及び阻害作用を評価した。

インクリシランは，トランスポーターである MDR1，BCRP，OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，OCT3，OATB1B1，OATP1B3，MATE1，MATE2-K，及び BSEP を阻害しなかった。また，これらトランスポーターの基質として輸送されなかった。

8 その他の薬物動態試験

インクリシランに関するその他の薬物動態試験は実施されていない。

9 考察及び結論

ラット及びサルにインクリシランを 1～25 mg/kg の用量範囲で単回静脈内及び皮下投与したとき，並びに 2.5～6 mg/kg の用量範囲で反復皮下投与したときのインクリシランの PK を評価した。単回皮下投与したとき，インクリシランはラット及びサルの循環血中に吸収され，皮下投与のバイオアベイラビリティは，それぞれ 48.9%及び 29.3%であった。この比較的低いバイオアベイラビリティは，放射性標識体を用いた試験において，放射能の皮下投与部位での長い半減期（ラットでは約 526 時間）によって説明可能である。皮下投与後の血漿中曝露量（Cmax 及び AUClast）は，両動物種で用量にほぼ比例して増加した。ラット及びサルの Tmax はそれぞれ約 1 及び 2 時間であり，消失半減期はラットで 0.9～1.7 時間，サルで 2.2～4.3 時間であった。反復投与後の PK パラメータは単回投与後と類似しており，ラット及びサルの最終投与後の Tmax は，それぞれ約 1 及び 2 時間であった。PK パラメータに性差は認められなかった。マウス，ラット，サル，及びヒトの血漿蛋白結合率はインクリシラン濃度の低下とともに上昇し，検討した最低濃度（0.5 μg/mL）において最高の結合率を示した。0.5 μg/mL における血漿蛋白結合率は動物種間で類似しており，87.4%（ヒト血漿）～93.1%（ラット血漿）の範囲内であった。なお，臨床曝露量は，血漿蛋白結合を評価した試験の最低濃度に近い範囲にある。

非標識インクリシランを使用してラット及びサルの単回及び反復投与後の限定的な組織分布を，放射性標識 ^{14}C-インクリシランを使用してラット及びサルの単回投与後の包括的な組織分布を評価した。^{14}C-インクリシランでの結果は，非標識インクリシランで得られた結果と一致していた。

ラットに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したとき，すべての測定時点において投与部位に最高濃度の放射能が確認され，続いて肝臓及び腎皮質に高い放射能が認められた。大部分の測定時点において，眼の水晶体，白色脂肪，骨，骨格筋，並びに神経組織（脊髄及び脳）では，放射能が非常に低濃度か，ほとんど検出されなかった。最終測定時点である投与後 2352 時間では，45 組織中 15 組織で放射能濃度が定量可能であった。ほとんどの組織（45 組織中 28 組織）における放射能の Tmax は投与後 24～72 時間の範囲で観測された。皮下投与部位，肝臓，及び腎臓中の Cmax 値は他の組織より著しく高く，AUC 値は通常，他の組織よりも少なくとも 10 倍大きかった。すべての組織からの放射能の消失は比較的遅く，半減期の値はすべての組織で 100 時間を超えていた。500 時間以上の組織中半減期は，血液（心臓，1304.7 時間），脳（延髄，1105.9 時間），眼（ブドウ膜，1070.8 時間），副腎（725.2 時間），副腎髄質（618.6 時間），脾臓（606.7

時間），脊髄（553.1 時間），胃（胃粘膜，531.6 時間），及び皮下投与部位（526.1 時間）で確認された。2 組織（大脳及び眼の水晶体）の放射能半減期は，十分な評価時点数が得られず算出できなかった。標的臓器である肝臓の半減期は 270.6 時間であった。

サルに ^{14}C-インクリシランを単回皮下投与したとき，すべての測定時点において高濃度の放射能が肝臓に確認され，続いて初期（投与後 4 時間）の時点において腎臓に高い放射能が認められた。なお，サルの試験では投与部位は測定されなかった。ラットと同様に，放射能が非常に低濃度か，ほとんど検出されなかった組織は眼全体及び関連する組織（水晶体及びブドウ膜）であり，神経組織（脊髄及び脳）中の放射能も非常に低く，定量限界値をわずかに上回る程度であった。Cmax を比較すると，肝臓及び腎錐体がすべての組織中で最も高い放射能濃度を示し，どちらも同程度の値であった。次に高い放射能濃度を示した組織は胆嚢であり，肝臓及び腎臓の約 1/4 であった。Tmax はすべての組織で 1～672 時間の範囲内であり，肝臓及び腎臓ではそれぞれ 72 及び 4 時間であった。AUClast を比較すると，肝臓はすべての組織中で最も高い曝露量を示し，2 番目に高い値を示したリンパ節よりも約 8 倍大きかった。腎臓の皮質，全体，錐体，及び髄質でも高い曝露量が認められた。放射能の滞留時間が長いため，大部分の組織で正確な半減期を算出することはできなかったが，肝臓及び腎臓の半減期はそれぞれ約 1980 及び 657 時間と見積もられた。最終測定時点（投与後 1008 時間）においても，すべての組織で放射能が確認された。

マウス，ラット，サル，及びヒトのプール血清及び肝 S9 画分を用いて，インクリシランの *in vitro* 代謝安定性を評価した。マウス，ラット，サル，及びヒトのプール血清中でインクリシランを 24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，82%，72%，及び 80%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 95%，91%，91%，及び 87%であった。マウス，ラット，サル，及びヒトの肝 S9 画分中でインクリシランを 24 時間インキュベーションしたときの AS 鎖の残存率はそれぞれ約 85%，43%，63%，及び 41%，S 鎖の残存率はそれぞれ約 94%，64%，87%，及び 71%であった。

マウス，ラット，サル，及びヒトの血清及び肝 S9 画分中でインキュベーションしたときのインクリシランの *in vitro* 代謝プロファイル，並びにラット及びサルの血漿及び肝臓の分析によりインクリシランの *in vivo* 代謝プロファイルを評価した。インクリシランは非常に安定であり，二本鎖未変化体から派生した完全長の AS 鎖及び S 鎖がすべての試験系において主要成分として観察され，各生体試料中で認められた代謝は限定的であった。主要な代謝物は，AS 鎖の 3’及び 5’末端から 1 つのヌクレオチドが切断されて生成する AS(n-1)3’及び AS(n-1)5’であった。肝 S9 画分中でより長時間インキュベーションしたとき，AS 鎖のより広範な代謝が認められ，4～5 のヌクレオチドが 5’末端から切断した AS(n-4)5’及び AS(n-5)5’が生成し，さらに広範囲の代謝は肝臓中（*in vivo*）で確認された［AS(n-6)5’及び AS(n-7)5’］。初期の測定時点では，S 鎖の代謝物は観測されなかった。これは，3’末端の GalNAc 残基がエキソヌクレアーゼによる S 鎖の代謝から保護しているためと考えられる。後期の測定時点では，S 鎖から GalNAc 残基及び関連するリンカー

部分の切断が観測され，エキソヌクレアーゼによる 3’末端への連続的な作用により断片的な代謝物が生成した（肝臓中，*in vivo*）。

In vivo 代謝プロファイルは，*in vitro* プロファイルと相関していた。ラットでは 7 種類の生体試料（血漿，尿，胆汁，糞，肝臓，腎臓，及び投与部位）で合計 18 種類の AS 鎖代謝物が同定され，それらは主に 5’及び 3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。代謝物のサイズは，AS(n-1)から AS(n-10)の範囲であった。AS(n-1)は，AS 鎖未変化体と比較して極めて低濃度であったが，すべての生体試料中で一貫して検出可能な唯一の代謝物であった。各生体試料中の AS(n-1)の Cmax 値は，AS 鎖未変化体比として，血漿で 1/27.5，尿で 1/17.6，胆汁で 1/7.9，肝臓で 1/35.1，及び腎臓で 1/62.4 であった。AS(n-2)5’及び AS(n-2)3’は，どの測定時点においても，血漿，糞，胆汁，肝臓，及び腎臓中に定量可能な濃度で検出されなかった。AS(n-2)代謝物は尿中に検出されたが，定量限界（15 ng/mL）をわずかに超える程度の濃度であった。他の AS 鎖代謝物は微量に存在するのみであった。

サルでは 5 種類の生体試料（血漿，尿，糞，肝臓，及び腎臓）で合計 35 種類の AS 鎖代謝物が同定され，それらは主に 5’及び 3’末端において連続したエキソヌクレアーゼ作用により生成した。代謝物のサイズは，AS(n-1)から AS(n-19)の範囲であった。糞では定量可能な未変化体及び代謝物は確認されなかったが，それ以外のすべての生体試料中で一貫して検出及び定量可能な唯一の代謝物は AS(n-1)であった。代謝物 AS(n-1)は，常に AS 鎖未変化体よりも低い濃度であった。各生体試料中の AS(n-1)の Cmax 値は，AS 鎖未変化体比として，血漿で 1/24，尿で 1/2.5，肝臓で 1/9.5，及び腎臓で 1/13.7 であった。代謝物 AS(n-2)5’は非常に低濃度で尿及び肝臓中にのみ検出され，AS(n-2)3’は定量限界（15 ng/mL）をわずかに上回る濃度で肝臓中にのみ認められた。

ラットでは検討した 7 種類の生体試料全体で合計 12 種類の S 鎖代謝物が同定され，サルでは検討した 5 種類の生体試料全体で 20 種類の S 鎖代謝物が同定された。両動物種ともに， S 鎖代謝物の大部分は，3’末端の 3 つの GalNAc 残基の切断及び関連する 3 つのリンカー部分の切断によって生成した代謝物であった。さらに，ラットでは S(n-6)3’，サルでは S(n-14)3’に至る 3’末端からの末端ヌクレオチド切断により生成した微量の代謝物が検出された。サルでは，S 鎖の微量代謝物は主に尿及び肝臓に検出されたが，血漿，糞，及び腎臓では確認されなかった。

放射性標識 ^{14}C-インクリシランを用いたマスバランス試験の結果，ラット及びサル血漿からの主要な消失経路は腎排泄であることが示され，ラットでは糞中にもインクリシランが排泄されることが示された。投与後 7 日間で，投与放射能量の約 29%（ラット）及び 32%（サル）が尿中に回収された。投与後 96 時間のラット屍体中の残存放射能量は約 39%であった。このことは，インクリシランの長い組織滞留時間と関連していると考えられた。

インクリシランは，プールした HLM を用いた試験において 7 種類のヒト CYP（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及び CYP3A4/5）に対して直接的，又は時間依存的阻害作用を示さなかった。また，インクリシランは，培養ヒト肝細胞において CYP1A2，CYP2B6，及び CYP3A4 に対する誘導作用を示さなかった。インクリシランは，トランスポータ

ーである MDR1，BCRP，OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，OCT3，OATP1B1，OATP1B3，MATE1，MATE2-K，及び BSEP の基質ではなく，これらに対する阻害作用も示さなかった。

要約すると，インクリシランは血漿中で比較的短い見かけの終末相半減期（1～4 時間の範囲）を示し，標的臓器である肝臓に優先的に分布し，Tmax は投与後 1～2 時間である。投与部位及び腎臓を除いて，^{14}C-インクリシラン投与後の放射能の肝臓中濃度は評価した他の組織中濃度よりも数倍高いため，標的外の毒性の可能性は低くなると考えられる。QWBA の結果から，^{14}C-インクリシラン投与後の放射能の肝臓からの消失半減期は長く（ラット：271 時間，サル：1980 時間），広範な代謝は受けない。長い肝臓内半減期及び代謝的安定性は，臨床での長い投薬間隔の可能性を裏付けている。さらに，インクリシランは主要な CYP アイソフォーム又はトランスポーターのいずれとも相互作用せず，薬物相互作用の可能性が低いことを示している。

2.6.5 薬物動態試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 4
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧 6
2.6.5.2　薬物動態試験：分析方法 9
2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収 11
2.6.5.3A　ラットにインクリシランを単回静脈内ボーラス投与及び単回皮下投与したときの吸収 11
2.6.5.3B　ラットにインクリシランを単回静脈内持続注入及び単回皮下投与したときの吸収 12
2.6.5.3C　ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの吸収 13
2.6.5.3D　サルにインクリシランを単回静脈内ボーラス投与及び単回皮下投与したときの吸収 14
2.6.5.3Eサルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの吸収 16
2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収 17
2.6.5.4A　ラットにインクリシランを反復皮下投与したときの吸収 17
2.6.5.4B　サルにインクリシランを反復皮下投与したときの吸収 18
2.6.5.5　薬物動態試験：分布 19
2.6.5.5A　ラットにインクリシランを単回静脈内及び皮下投与したときの組織分布 19
2.6.5.5B　ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの組織分布 21
2.6.5.5C　ラットにインクリシランを反復皮下投与したときの組織分布 24
2.6.5.5D　サルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの組織分布 25
2.6.5.6　薬物動態試験：蛋白結合 28
2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 29
2.6.5.7A　薬物動態：妊娠ラットにおける試験 29
2.6.5.7B　薬物動態：妊娠ウサギにおける試験 30
2.6.5.7C　薬物動態：授乳動物における試験 31
2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験 32
2.6.5.9　薬物動態試験：*In vivo* における代謝 33
2.6.5.9A　ラット組織中のインクリシラン主要代謝物の定量 33
2.6.5.9B　サル組織中のインクリシラン主要代謝物の定量 36
2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝 38
2.6.5.10A マウス，ラット，サル，及びヒトの血清及び S9 画分におけるインクリシランの *in vitro* 代謝安定性 38
2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路 39
2.6.5.11A ラットにおけるインクリシランアンチセンス鎖の推定代謝経路 39
2.6.5.11B ラットにおけるインクリシランセンス鎖の推定代謝経路 40

2.6.5.11C サルにおけるインクリシランアンチセンス鎖の推定代謝経路.....41
2.6.5.11D サルにおけるインクリシランセンス鎖の推定代謝経路.....42
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害.....43
2.6.5.12A *In vitro* における CYP 阻害.....43
2.6.5.12B *In vitro* における CYP 誘導.....45
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄.....46
2.6.5.13A ラットにインクリシランを単回皮下投与したときの尿及び糞中排泄.....46
2.6.5.13B ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときのマスバランス.....47
2.6.5.13C サルにインクリシランを単回皮下投与したときの尿及び糞中排泄.....48
2.6.5.13D サルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの排泄.....49
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄.....50
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用.....51
2.6.5.15A *In vitro* におけるヒト ABC 及び SLC トランスポーターの阻害及び基質の可能性評価.....51
2.6.5.16 薬物動態試験：その他.....52

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ABC	ATP-binding cassette	ATP 結合カセット
AS	antisense	アンチセンス
AUCall	area under the concentration-time curve from time zero to last time point	時間 0 から最終測定時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUCinf	area under the concentration-time curve from time zero to infinity time	時間 0 から無限大時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
AUClast	area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration	時間 0 から最終定量可能時間までの薬物濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump	-
BQL	below quantitation limit	定量限界未満
C0	estimated concentration at time zero	時間 0 における推定薬物濃度
Cmax	maximum concentration	最高薬物濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫測定法
EMSA	electrophoretic mobility shift assay	電気泳動移動シフト法
F	female	雌
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GalNAc	N-acetylgalactosamine	N-アセチルガラクトサミン
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	immunoglobulin M	免疫グロブリン M
IV	intravenous	静脈内
LC-TOF-MS	liquid chromatography-time of flight-mass spectometry	液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析
LD	lactation day	授乳日
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
M	male	雄
MATE	multidrug and toxin extrusion	-
MDR	multidrug resistance	多剤耐性蛋白質
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーリボ核酸
NA	not applicable	該当なし
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	not calculable; apparent terminal elimination phase was not appropriately characterized	算出できず（見かけの終末消失相を適切に設定できず）

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ND	not determined; unable to determine value from the data, or less than three consecutive concentrations were quantified	決定できず（データから値を判断できず，又は連続した 3 時点以上で濃度を定量化できず）
NR	not reported	報告書に記載なし
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
pc	post coitum	交尾後
PCSK9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	プロ蛋白質転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
pp	post partum	分娩後
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
Q2W	once every 2 weeks	2 週間に 1 回
QM	once monthly	月に 1 回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
S	sense	センス
SC	subcutaneous	皮下
SD	standard deviation	標準偏差
SLC	solute carrier	溶質キャリア
T1/2	apparent terminal elimination half-life	見かけの終末相消失半減期
Tlast	time to the last measurable concentration	最終定量可能時間
Tmax	time to reach maximum (peak) concentration following drug administration	最高薬物濃度到達時間

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧

Test Article: Inclisiran or [^{14}C]-inclisiran

Type of Study[a]	Test System	Method of Administration	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Absorption						
Single and repeat dose PK, PD, bioavailability and tissue distribution	Sprague-Dawley Rats	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8301499]	4.2.2.2-1
Single dose PK	Sprague-Dawley Rats	IV infusion and SC injection	No	[redacted], [redacted], [redacted], US	[508N-1902]	4.2.2.2-2
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Sprague-Dawley Rats	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], US	[508-1716]	4.2.2.2-3
Single and repeat dose PK, PD, including excreta and limited tissue distribution	Cynomolgus Monkeys	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8299434]	4.2.1.1-6
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Cynomolgus Monkeys	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	No	[redacted], [redacted], UK	[175986]	4.2.2.2-4
Distribution						
Plasma protein binding	*In Vitro*: mouse, rat, monkey, human plasma	*In Vitro*	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[BA14004]	4.2.2.3-1
Plasma protein binding	*In Vitro*: mouse, rat, monkey, human plasma	*In Vitro*	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[PCSSC-DSM19-006]	4.2.2.3-2
Single and repeat dose PK, PD, bioavailability and tissue distribution	Sprague-Dawley Rats	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8301499]	4.2.2.2-1
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Sprague-Dawley Rats	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], US	[508-1716]	4.2.2.2-3

Type of Study[a]	Test System	Method of Administration	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single and repeat dose PK, PD, including excreta and limited tissue distribution	Cynomolgus Monkeys	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8299434]	4.2.1.1-6
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Cynomolgus Monkeys	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	No	[redacted], [redacted], UK	[175986]	4.2.2.2-4
PK study in pregnant animals (Embryo-fetal development study)	Sprague-Dawley Rats	SC injection	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], Canada	[9001072]	4.2.3.5.2-2
PK study in pregnant animals (Embryo-fetal development study)	New Zealand White Rabbits	SC injection	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], Canada	[9001073]	4.2.3.5.2-4
PK study in nursing animals (Pre and post-natal development study)	Sprague-Dawley Rats	SC injection	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], Canada	[9001159]	4.2.3.5.3-1
Metabolism						
In vitro serum and liver S9 fraction metabolic stability and profiling	Mouse, Rat, Monkey, Human	*In Vitro*	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[BA14008]	4.2.2.4-1
In vivo metabolism of inclisiran in plasma and liver	Sprague-Dawley Rats Cynomolgus Monkeys	SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[BA14008]	4.2.2.4-1
In vivo metabolite identification in plasma, urine, bile, feces, liver, kidney and injection site tissue	Sprague-Dawley Rats	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	No	[redacted], [redacted], [redacted], US	[508N-1717]	4.2.2.4-2
In vivo metabolite identification in plasma, urine, feces, liver, and kidney	Cynomolgus Monkeys	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	No	[redacted], [redacted], [redacted], US	[508N-1722]	4.2.2.4-3
Excretion						
Single and repeat dose PK, PD, bioavailability and tissue distribution	Sprague-Dawley Rats	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8301499]	4.2.2.2-1

Type of Study[a]	Test System	Method of Administration	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Sprague-Dawley Rats	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	Yes	[redacted], [redacted], US	[508-1716]	4.2.2.2-3
Single and repeat dose PK, PD, including excreta and limited tissue distribution	Cynomolgus Monkeys	IV bolus and SC injection	No	Alnylam Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US	[8299434]	4.2.1.1-6
Radiolabeled PK, mass balance and tissue distribution by QWBA	Cynomolgus Monkeys	[^{14}C]-inclisiran; SC injection	No	[redacted], [redacted], UK	[175986]	4.2.2.2-4
Pharmacokinetic Drug Interactions						
In vitro CYP inhibition	Human Liver Microsomes	*In Vitro*	No	[redacted], [redacted], US	[319N-1401]	4.2.2.6-1
In vitro CYP induction	Human Hepatocytes	*In Vitro*	No	[redacted], [redacted], US	[508N-1606]	4.2.2.6-2
In vitro transporter substrate/inhibitor	Transfected cells and membrane vesicles	*In Vitro*	No	[redacted], [redacted], US	[508N-1605]	4.2.2.6-3
				[redacted], [redacted], US	[508N-1903]	4.2.2.6-4

[a] Many of the studies included absorption, distribution, metabolism, and excretion arms; therefore, each study is repeated in each appropriate section

CYP: cytochrome P450; GLP: Good Laboratory Practice; IV: intravenous; PD: pharmacodynamic(s); PK: pharmacokinetic(s); QWBA: quantitative whole body autoradiography; SC: subcutaneous

2.6.5.2 薬物動態試験：分析方法

Species / Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Type of Assay	Precision Validation	Accuracy Validation	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Mouse / Plasma	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	10 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	Yes	[508-1603]	4.2.2.1-1
Rat / Plasma	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	10 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	Yes	[319-1405]	4.2.2.1-2
Rat / Fetal Plasma	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	10 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	Yes	[508-1713]	4.2.2.1-3
Rabbit / Plasma	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	10 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	Yes	[508-1508]	4.2.2.1-4
Monkey / Plasma	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	10 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	Yes	[319-1406]	4.2.2.1-5
Monkey / Plasma	PCSK9	0.63 ng/mL – 40 ng/mL	ELISA	%CV ≤ 30%	± 30%	Yes	[3800015]	4.2.2.1-6
Mouse / Liver, Kidney	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1718]	4.2.2.1-7
Rat / Liver. Kidney, Heart	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1503]	4.2.2.1-8
Rabbit / Liver	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1703]	4.2.2.1-9
Monkey / Liver, Kidney, Heart	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1504]	4.2.2.1-10
Rat / Maternal Milk	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1723]	4.2.2.1-11
Rat / Urine	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	No	[508N-1714]	4.2.2.1-12
Rat / Feces	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1714]	4.2.2.1-12
Monkey / Urine	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 15% (≤ 20% at LLOQ)	± 15% (± 20% at LLOQ)	No	[508N-1715]	4.2.2.1-13
Monkey / Feces	Antisense strand (A-120190) Sense strand (A-122088)	20 ng/mL – 10000 ng/mL	LC-TOF-MS	%CV ≤ 25% (≤ 30% at LLOQ)	± 25% (± 30% at LLOQ)	No	[508N-1715]	4.2.2.1-13

Species / Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Type of Assay	Precision Validation	Accuracy Validation	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Rat / Serum	Anti-inclisiran IgG / IgM antibodies	319.9 ng/mL[a]	Qualitative ELISA	%CV ≤ 25%	NA	Yes	[3000695]	4.2.2.1-15
Rabbit / Serum	Anti-inclisiran IgG / IgM antibodies	238.3 ng/mL[a]	Qualitative ELISA	%CV ≤ 20%	NA	Yes	[2801087]	4.2.2.1-14
Monkey / Serum	Anti-inclisiran IgG / IgM antibodies	138.5 ng/mL[a]	Qualitative ELISA	%CV ≤ 25%	NA	Yes	[3000698]	4.2.2.1-16

[a] Assay sensitivity

CV: coefficient of variation; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; GLP: Good Laboratory Practice; IgG: immunoglobulin G; IgM: immunoglobulin M; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectometry; LLOQ: lower limit of quantification; NA: not applicable; PCSK9: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3A ラットにインクリシランを単回静脈内ボーラス投与及び単回皮下投与したときの吸収

Study Title: The Pharmacokinetics, Bioavailability, Tissue Distribution and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Sprague-Dawley Rats

Test Article: Inclisiran

Study No. [8301499], **Location in CTD:** 4.2.2.2-1

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	M:20 / group; F:20 / group. PK parameters are based on a composite of data (n = 2 / sex / group / timepoint) from all animals.
Feeding condition:	Not Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	IV and SC
Sample:	Plasma
Analyte:	Inclisiran
Assay:	LC-TOF-MS

Route of Administration:	**IV**						**SC**					
Dose (mg/kg):	**5**			**1**			**5**			**25**		
Gender:	**M**	**F**	**Mean**	**M**	**F**	**Mean**	**M**	**F**	**Mean**	**M**	**F**	**Mean**
Tmax (h)	NA	NA	NA	1.0	0.5	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
C0 (µg/mL)	38.1	79.6	58.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Cmax (µg/mL)	NA	NA	NA	0.210	0.185	0.198	0.691	0.884	0.787	12.5	8.17	10.3
AUClast (h·µg/mL)	4.55	6.17	5.36	0.385	0.311	0.348	1.85	1.92	1.88	22.6	16.4	19.5
T1/2 (h)	0.3	0.2	0.3	1.0	0.9	0.9	1.6	1.9	1.7	1.3	0.8	1.1

Additional Information: Bioavailability was 35.1% based on combined male and female data at 5 mg/kg SC dose

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C0: estimated concentration at time zero; Cmax: maximum concentration; F: female; IV: intravenous; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; M: male; NA: not applicable; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.3B　ラットにインクリシランを単回静脈内持続注入及び単回皮下投与したときの吸収

Study Title: Pharmacokinetics of Inclisiran in Sprague-Dawley Rats following a Single Intravenous Infusion or Subcutaneous Injection

Test Article: Inclisiran

Study No. [508N-1902], **Location in CTD:** 4.2.2.2-2

Species:		Sprague-Dawley Rats	
Gender (M / F) / Number of animals:		M:3 / group	
Feeding condition:		Not fasted	
Vehicle / Formulation:		0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)	
Method of Administration:		IV infusion (1 h) and SC	
Sample:		Plasma	
Analyte:		Inclisiran	
Assay:		LC-TOF-MS	
Route of Administration:		**IV**	**SC**
Dose (mg/kg):		**5**	**5**
PK Parameters (Mean ± SD)	**Tmax (h)**	1.0[b]	1.0[b]
	Cmax (ng/mL)	1931 ± 791	237 ± 25
	AUClast (h·ng/mL)	1515 ± 486	741 ± 118
	AUCinf (h·ng/mL)	2077.9[a]	766.5 ± 113.1
	T1/2 (h)	0.12[a]	1.18 ± 0.11
Additional Information:		Bioavailability was 48.9%	

[a] Values are from 1 animal and are not means.

[b] Median value.

AUCinf: area under the concentration-time curve from time zero to infinity time; AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; F: female; IV: intravenous; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; M: male; SC: subcutaneous; SD: standard deviation; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.3C ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの吸収

Study Title: Excretion Mass Balance, Pharmacokinetics, Tissue Distribution by Quantitative Whole-Body Autoradiography, and Biodistribution of Radioactivity in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-inclisiran

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [508-1716], **Location in CTD:** 4.2.2.2-3

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	Males. There were three separate PK analysis arms using from 6 to 10 animals per arm.
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Sample:	Plasma and Blood
Analyte:	total radioactivity and inclisiran
Assay:	LSC (total radioactivity) and LC-TOF-MS (inclisiran)
Dose (mg/kg):	[^{14}C]-inclisiran 65 mg/kg [~155 µCi/mL (52 mg/mL), which resulted in a target dose of 65 mg/kg and ~193.7 µCi/kg using a dose volume of 1.25 mL/kg].

Matrix (number of animals)	**Plasma Total Radioactivity[a,d] (n = 6)**	**Plasma Inclisiran[a,e] (n = 6)**	**Plasma Total Radioactivity[b,d] (n = 10)**	**Blood Total Radioactivity[b,d] (n = 10)**	**Plasma Total Radioactivity[c,d] (n = 9)**
Tmax (h)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Cmax (µg equiv/mL)	8.387	4.977	10.481	6.782	22.879
AUClast (h·µg equiv/mL)	49.358	20.179	145.444	99.162	170.401
AUCinf (h·µg equiv/mL)	54.930	22.444	163.291	144.870	192.553
T1/2 (h)	6.9	2.4	72.3	146.7	77.5

[a] collection time points: 0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, and 24 hours post dose

[b] collection time points: 1, 4, 24, 72, 120, 168, 336, 672, 1032, and 2352 hours post dose (n = 1 / timepoint)

[c] collection time points: 1, 4, 24, 72, 120, 168, 336, 672, and 1032 hours post dose (n = 1 / timepoint)

[d] analysis by LSC

[e] analysis by LC-TOF-MS

AUCinf: area under the concentration-time curve from time zero to infinity time; AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.3D　サルにインクリシランを単回静脈内ボーラス投与及び単回皮下投与したときの吸収

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Cynomolgus Monkeys

Test Article: Inclisiran

Study No. [8299434], **Location in CTD:** 4.2.1.1-6

Species:	Cynomolgus Monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	IV: n = 2 / sex; SC: n = 4 / sex / group; n = 2 / sex / group for 6 mg/kg dosed at 120 mg/mL
Feeding condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	IV and SC
Sample:	Plasma
Analyte:	Inclisiran
Assay:	LC-TOF-MS

Route of Administration:	**IV**			**SC**											
Dose (mg/kg):	**6**			**1**			**3**			**6**			**6[a]**		
Number of animals / sex:	**(n = 2)**			**(n = 4)**			**(n = 4)**			**(n = 4)**			**(n = 2)**		
Gender:	**M**	**F**	**Mean ± SD**	**M**	**F**	**Mean ± SD**	**M**	**F**	**Mean ± SD**	**M**	**F**	**Mean ± SD**	**M**	**F**	**Mean ± SD**
Tmax (h)	NA	NA	NA	2.8	1.3	2.0 ± 1.3	1.5	2.0	1.8 ± 0.5	2.3	2.0	2.1 ± 0.8	1.3	1.5	1.4 ± 0.8
C0 (µg/mL)	144	147	146 ± 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Cmax (µg/mL)	NA	NA	NA	0.148	0.127	0.137 ± 0.050	0.593	0.459	0.526 ± 0.180	1.07	0.996	1.03 ± 0.28	3.07	1.53	2.30 ± 1.17
AUClast (h·µg/mL)	25.7	27.0	26.4 ± 2.2	0.853	0.629	0.741 ± 0.219	3.43	2.69	3.06 ± 1.12	7.28	5.79	6.53 ± 1.53	11.0	6.91	8.93 ± 2.61
T1/2 (h)	0.7	0.6	0.6 ± 0.1	3.2	4.8	4.3 ± 2.0	2.5	2.4	2.4 ± 0.6	2.4	2.1	2.2 ± 0.4	1.4	2.3	1.9 ± 0.6

Additional Information: Bioavailability was 24.7% and 33.8% in the 6 mg/kg (4 mg/mL) and 6 mg/kg (120 mg/mL) groups, respectively (based on combined male and female data).

[a] Higher concentration dosing solution (120 mg/mL) was used to dose animals in this group compared to 4 mg/mL for other 6 mg/kg group.

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C0: estimated concentration at time zero; Cmax: maximum concentration; F: female; IV: intravenous; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; M: male; NA: not applicable; SC: subcutaneous; SD: standard deviation; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.3E　サルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの吸収

Study Title: [^{14}C]-Inclisiran: The Distribution, Metabolism and Excretion of [^{14}C]-Inclisiran Following Single Subcutaneous Administration in the Male Cynomolgus Monkey

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [175986], **Location in CTD:** 4.2.2.2-4

Species:	Cynomolgus Monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	Only males. N = 12. Seven (7) animals were used for single time point collections and 4 animals were used for serial collections. PK parameters are based on a composite of data from all 12 animals.
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Sample:	Plasma and Blood
Analyte:	total radioactivity and inclisiran
Assay:	LSC (total radioactivity) and LC-TOF-MS (inclisiran)
Dose:	[^{14}C]-inclisiran administered at a target dose of 20 mg/kg in a dose volume of 1.5 mL/kg. (target radioactive dose: 2 MBq/kg)

Matrix	Plasma Total Radioactivity[a,b]	Plasma Inclisiran[a,c]	Blood Total Radioactivity[a,b]
Tmax (h)	2	2	2
Cmax (µg equiv/g or mL)	5.91	2.39	3.13
AUClast (h·µg equiv/g or mL)	82.2	25.3	117
AUCinf (h·µg equiv/g or mL)	90.8[d]	25.6[d]	243[d]
Tlast (h)	672	336	1008
T1/2 (h)	298[d]	47.6[d]	974[d]

[a] collection time points: 0, 0.083, 0.25,0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 336, 672, and 1008 hours post dose

[b] analysis by LSC

[c] analysis by LC-TOF-MS

[d] the coefficient of determination of the elimination phase was <0.800 and/or the extrapolation of the AUC to infinity represented more than 20% of the total area

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; AUCinf: area under the concentration-time curve from time zero to infinity time; Cmax: maximum concentration; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tlast: time to the last measurable concentration; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4A ラットにインクリシランを反復皮下投与したときの吸収

Study Title: The Pharmacokinetics, Bioavailability, Tissue Distribution and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Sprague-Dawley Rats

Test Article: Inclisiran
Study No. [8301499], **Location in CTD:** 4.2.2.2-1

Species:	Sprague-Dawley Rats					
Gender (M / F) / Number of animals:	M: 20 / group; F:20 / group. PK parameters are based on a composite of data (n = 2 / sex / group / timepoint) from all animals.					
Feeding condition:	Not Fasted					
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)					
Method of Administration:	SC					
Sample:	Plasma					
Analyte:	Inclisiran					
Assay:	LC-TOF-MS					
Dose Regimen:	**5 mg/kg + 2.5 mg/kg QM[a,c]**			**5 mg/kg + 2.5 mg/kg Q2W[b,c]**		
Gender:	**M**	**F**	**Mean**	**M**	**F**	**Mean**
Tmax (h)	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.8
Cmax (µg/mL)	0.497	0.542	0.519	0.643	0.557	0.600
AUClast (h·µg/mL)	1.76	1.10	1.43	1.74	1.21	1.47
T1/2 (h)	1.1	0.8	1.0	1.7	0.9	1.3

[a] Single SC loading dose of 5 mg/kg followed by 3 doses of 2.5 mg/kg once monthly (Total doses = 4)

[b] Single SC loading dose of 5 mg/kg followed by 6 doses of 2.5 mg/kg once every 2 weeks (Total doses = 7)

[c] PK parameters determined following last dose. Blood collection time points: 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 672, and 1344 hours post dose

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; F: female; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; M: male; QM: once monthly; Q2W: once every 2 weeks; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.4B　サルにインクリシランを反復皮下投与したときの吸収

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Cynomolgus Monkeys

Test Article: Inclisiran
Study No. [8299434], **Location in CTD:** 4.2.1.1-6

Species:	Cynomolgus monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	M:3 / group; F:3 / group
Feeding condition:	Not Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Sample:	Plasma
Analyte:	Inclisiran
Assay:	LC-TOF-MS

Dose Regimen:	**6 mg/kg + 3 mg/kg QM[a,c]**						**6 mg/kg + 3 mg/kg Q2W[b,c]**					
Gender:	**M**		**F**		**Mean ± SD**		**M**		**F**		**Mean ± SD**	
Study Day:	**1**	**85**	**1**	**85**	**1**	**85**	**1**	**85**	**1**	**85**	**1**	**85**
Tmax (h)	1.7	2.0	1.7	1.7	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.4	3.0	1.7	2.0	1.7	2.5 ± 1.2	1.7 ± 0.5
Cmax (µg/mL)	1.45	0.518	1.25	0.438	1.35 ± 0.49	0.478 ± 0.171	1.13	0.408	1.41	0.461	1.27 ± 0.47	0.434 ± 0.160
AUClast (h·µg/mL)	7.68	2.91	6.45	2.30	7.06 ± 1.79	2.60 ± 0.46	7.90	2.70	6.87	2.52	7.39 ± 1.85	2.61 ± 0.34
T1/2 (h)	2.2	4.4	2.0	2.5	2.1 ± 0.4	3.4 ± 1.8	2.9	3.0	1.7	3.5	2.3 ± 1.0	3.3 ± 0.9

[a] Single SC loading dose of 6 mg/kg followed by 3 doses of 3 mg/kg once monthly (Total doses = 4)

[b] Single SC loading dose of 6 mg/kg followed by 6 doses of 3 mg/kg once every 2 weeks (Total doses = 7)

[c] Blood collection time points: predose; 0.083, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, and 168 hours post dose

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; F: female; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; M: male; QM: once monthly; Q2W: once every 2 weeks; SC: subcutaneous; SD: standard deviation; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5A ラットにインクリシランを単回静脈内及び皮下投与したときの組織分布

Study Title: The Pharmacokinetics, Bioavailability, Tissue Distribution and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Sprague-Dawley Rats

Test Article: Inclisiran
Study No. [8301499], **Location in CTD:** 4.2.2.2-1

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	2 animals / sex / group / time point; 10 time points
Feeding condition:	Not Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	IV and SC
Sample:	Tissues
Analyte:	Inclisiran
Assay:	HPLC Atto-probe method with fluorescence detection

Route of Administration:	**IV**				**SC**			
Dose (mg/kg):	**5**		**1**		**5**		**25**	
Gender:	**Combined (M + F) Mean**							
Tissue:	**Liver**	**Kidney**	**Liver**	**Kidney**	**Liver**	**Kidney**	**Liver**	**Kidney**
Tmax (h)	5.0	0.3	8.0	50.0	8.0	60.0	8.0	60.0
Cmax (µg/g)	222	33.3	40.3	4.84	283	14.2	649	234
AUClast (h·µg/g)	13750	9878	3552	1045	22600	4020	95008	48113
T1/2 (h)	108	274	191	245	53.1	355	136	301

Route of Administration:		SC														
Dose:		5 mg/kg														
Tissue:		Adrenal		Thymus		Thyroid		Pancreas		Jejunum		Testes	Liver		Kidney	
Gender:		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	M	F	M	F
Tmax (h)		4.0	4.0	2.0	2.0	4.0	24.0	8.0	24.0	24.0	8.0	8.0	8.0	8.0	96.0	24.0
	Mean	4.0		2.0		14.0		16.0		16.0		8.0	8.0		60.0	
Cmax (µg/g)		0.280	0.310	0.430	0.550	1.32	1.67	2.20	2.55	0.530	0.550	0.200	278	288	13.9	14.4
	Mean	0.295		0.490		1.50		2.38		0.540		0.200	283		14.2	
AUClast (h·µg/g)		21.4	20.6	37.9	21.6	342	139	737	517	83.6	79.1	30.4	20900	24300	3970	4070
	Mean	21.0		29.8		241		627		81.4		30.4	22600		4020	
T1/2 (h)		187	NR	236	NR	326	NR	296	316	NR	NR	NR	44.3	61.9	327	383
	Mean	187		236		326		306		NR		NR	53.1		355	

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; F: female; HPLC: high performance liquid chromatography; IV: intravenous; M: male; NR: not reported; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.5B ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの組織分布

Study Title: Excretion Mass Balance, Pharmacokinetics, Tissue Distribution by Quantitative Whole-Body Autoradiography, and Biodistribution of Radioactivity in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-inclisiran

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [508-1716], **Location in CTD:** 4.2.2.2-3

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	M: n = 10; one composite profile per tissue
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	65
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisiran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol
Target Radioactivity Level:	~150-200 µCi/kg
Sampling Times:	1, 4, 24, 72, 120, 168, 336, 672, 1032 and 2352 hours post dose
Analysis:	QWBA

Tissues / Organs	Cmax (µg equiv/g)	Tmax (h)	AUCall (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)	Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mrem)
Adipose (brown)	4.858	4	1578.285	234.8	ND
Adipose (white)	1.178	72	319.042	369.7	ND
Adrenal Gland	6.604	72	2388.369	725.2	ND
Adrenal Gland (cortex) [a]	5.569	72	1733.079	1059.7	ND
Adrenal Gland (medulla)	9.979	72	5112.522	618.6	0.0782
Blood (cardiac)	10.015	1	338.555	1304.7	ND
Bone [a]	1.370	72	718.623	1034.4	0.0224
Bone Marrow	16.296	72	7663.401	479.3	2.1825
Brain (cerebellum)[a]	0.309	120	186.249	670.0	0.0047
Brain (cerebrum)[a]	0.358	336	256.620	ND	ND
Brain (medulla)	0.328	4	103.680	1105.9	ND

Tissues / Organs	Cmax (µg equiv/g)	Tmax (h)	AUCall (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)	Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mrem)
Cecum	21.438	24	8271.695	450.5	ND
Epididymis	4.550	24	2304.989	360.1	ND
Esophagus	4.557	24	1908.354	151.6	0.2219
Eye (lens)[a]	0.252	24	21.288	ND	ND
Eye (uvea)	2.498	24	973.480	1070.8	ND
Harderian Gland	15.941	72	11998.715	454.7	ND
Heart	4.277	4	1843.546	207.9	0.0268
Kidney (cortex)	383.023	24	103723.599	359.6	1.5208
Kidney (inner medulla)	25.944	1	1616.175	189.3	ND
Kidney (medulla)	43.284	72	15291.485	403.0	ND
Kidney (outer medulla)	69.564	24	22631.490	312.0	ND
Large Intestine	18.665	24	8769.465	270.1	2.4472[c]
Liver[a]	652.592	24	119910.883	270.6	13.9542
Lung	2.426	4	980.643	199.0	0.2737
Lymph Node	18.272	72	7166.280	287.5	ND
Mammary Gland Region	4.410	24	2051.725	184.2	0.2386[d]
Oral Mucosa[a]	5.411	120	1625.098	634.8	ND
Pancreas	13.660	120	10237.802	417.0	0.1523
Pituitary Gland	3.909	72	1456.976	391.6	ND
Preputial Gland	13.356	120	6021.018	249.5	ND
Prostate Gland	6.304	72	1821.147	189.5	ND
Salivary Gland	17.923	72	9612.006	333.4	ND
Seminal Vesicles	2.459	72	845.931	155.0	ND
Skeletal Muscle	1.209	72	686.407	396.1	ND
Skin (non-pigmented)	4.074	4	1164.803	338.9	0.0271
Small Intestine	5.344	72	2369.813	284.0	0.0344

Tissues / Organs	Cmax (µg equiv/g)	Tmax (h)	AUCall (h·µg equiv/g)	T1/2 (h)	Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mrem)
Spinal Cord	0.353	120	275.371	553.1	ND
Spleen	6.218	120	4242.888	606.7	0.0674
Stomach (gastric mucosa)	7.257	120	4623.786	531.6	1.3605
Subcutaneous Dose Site[b]	5607.716	1	1181549.561	526.1	ND
Testis	3.270	24	1372.106	229.3	0.6382
Thymus	5.408	120	3015.471	260.6	0.0438
Thyroid	18.331	72	7757.872	188.4	0.9020
Urinary Bladder	13.552	72	5264.487	149.4	0.6121
Additional Information:	Cumulative Human Committed Effective Dose				24.8089

[a] T1/2 and AUCinf values for these tissue / organs are obtained from insufficient data points and/or the resulting r^2 values fall outside acceptance criteria (≥ 0.85), thus these values should be considered as estimate.

[b] Tissue with highest exposure before weighting

[c] substitute for colon

[d] substitute for breast

AUCall: area under the concentration-time curve from time zero to last time point; Cmax: maximum concentration; ND: not determined; unable to determine value from the data; SC: subcutaneous; QWBA: quantitative whole body autoradiography; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.5C　ラットにインクリシランを反復皮下投与したときの組織分布

Study Title: The Pharmacokinetics, Bioavailability, Tissue Distribution and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Sprague-Dawley Rats

Test Article: Inclisiran
Study No. [8301499], **Location in CTD:** 4.2.2.2-1

Species:	Sprague-Dawley Rats										
Gender (M / F) / Number of animals:	2 animals / sex / group / time point; 10 time points										
Feeding condition:	Not Fasted										
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)										
Method of Administration:	SC										
Sample:	Tissue										
Analyte:	Inclisiran										
Assay:	HPLC Atto-probe method with fluorescence detection										
Dose regimen:	**5 mg/kg + 2.5 mg/kg QM[a,c]**				**5 mg/kg + 2.5 mg/kg Q2W[b,c]**						
Tissue:	**Liver**		**Kidney**		**Liver**		**Kidney**		**Heart**		
Gender:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	
Tmax (h)	8.0	8.0	96.0	96.0	4.0	4.0	24.0	4.0	24.0	4.0	
Mean	8.0		96.0		4.0		14.0		14.0		
Cmax (µg/g)	152	165	14.2	9.98	105	119	14.0	16.6	0.308	0.265	
Mean	159		12.1		112		15.3		0.287		
AUClast (h·µg/g)	11395	10991	5855	5016	9476	11235	7204	7826	5.83	5.51	
Mean	11193		5436		10355		7515		5.67		
T1/2 (h)	NR	74.4	NR	685	118	66.1	527	519	NR	NR	
Mean	74.4		685		92.2		523		NR		
Additional Information:	Inclisiran concentrations in heart tissue were at or below the LLOQ (160 ng/g) following QM dosing and only measurable up to 24 hours after Q2W dosing										

[a] Single SC loading dose of 5 mg/kg followed by 3 doses of 2.5 mg/kg once monthly (Total doses = 4)

[b] Single SC loading dose of 5 mg/kg followed by 6 doses of 2.5 mg/kg once every 2 weeks (Total doses = 7)

[c] Tissue collection time points following last dose: 0.25, 2, 4, 8, 24, 96, 168, 336, 672, and 1344 hours post dose

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; F: female; HPLC: high performance liquid chromatography; LLOQ: lower limit of quantification; M: male; NR: not reportable; QM: once monthly; Q2W: once every 2 weeks; SC: subcutaneous; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.5D サルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの組織分布

Study Title: [^{14}C]-Inclisiran: The Distribution, Metabolism and Excretion of [^{14}C]-Inclisiran Following Single Subcutaneous Administration in the Male Cynomolgus Monkey

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [175986], **Location in CTD:** 4.2.2.2-4

Species:	Cynomolgus monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	M: n = 9; one composite profile per tissue
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	20
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisiran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol
Target Radioactivity Level:	54 µCi/kg
Sampling Times:	1, 4, 24, 72, 120, 168, 336, 672, and 1008 hours post dose
Analysis:	QWBA

Tissue / Organ	Tmax (h)	Cmax (µg equiv/g)	AUClast (µg equiv·h/g)	T1/2 (h)	Tlast (h)
Adrenal-cortex	24	14.2	8240	369	1008
Adrenal-medulla	168	15.9	5920	404	1008
Adrenal-whole	24	12.9	7880	361	1008
Bladder wall	1	12.1	3770	NC	672
Blood (cardiac)	4	4.20	208	672[a]	1008
Bone marrow	120	14.4	6650	NC	1008
Brain	672	0.500	415	NC	1008
Brown fat	336	13.4	3160	NC	336
Epididymis	672	5.40	2040	NC	672
Eye-lens	120	0.400	204	NC	1008
Eye-uveal tract	168	3.90	2980	2350[a]	1008
Eye-whole	168	0.700	403	672[a]	1008
Gallbladder	24	78.2	8930	928[a]	1008

Tissue / Organ	Tmax (h)	Cmax (µg equiv/g)	AUClast (µg equiv·h/g)	T1/2 (h)	Tlast (h)
Harderian gland	168	2.10	ND	ND	168
Heart muscle	336	4.70	4230	2190[a]	1008
Kidney-cortex	4	35.2	8510	774[a]	1008
Kidney-medulla	4	20.9	2900	3330[a]	1008
Kidney-pyramid	4	351	6280	9550[a]	1008
Kidney-whole	4	46.3	7360	657[a]	1008
Large intestine wall	24	17.6	7880	672[a]	1008
Liver	72	327	200000	1980[a]	1008
Lung	4	6.60	698	1840[a]	1008
Lymph node	120	66.2	25100	4860[a]	672
Pancreas	672	18.2	13400	NC	1008
Prostate	336	10.8	3940	NC	672
Rectum wall	72	13.1	6890	685[a]	1008
Salivary gland	168	11.2	7870	NC	1008
Seminal vesicles	72	3.90	1990	1050[a]	672
Skeletal muscle	672	1.10	1000	NC	1008
Skin	168	3.90	2730	322	1008
Small intestine wall	24	13.1	6800	904[a]	1008
Spinal cord	336	0.500	326	NC	1008
Spleen	24	12.2	6720	3690[a]	1008
Stomach wall-gastric	120	6.80	5600	4020[a]	1008
Stomach wall-non-gastric	336	8.00	ND	ND	336
Testes	336	13.7	7440	320	1008
Thymus	120	11.1	5570	1090[a]	1008
Thyroid	168	6.30	2390	NC	672
White fat	24	2.70	553	11500[a]	1008

[a] The coefficient of determination of the elimination phase was < 0.800.

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; M: male; NC: not calculable, apparent terminal elimination phase was not appropriately characterized; ND: not determined, less than three consecutive concentrations were quantified; QWBA: quantitative whole body autoradiography; T1/2: apparent terminal elimination half-life; Tlast: time to the last measurable concentration; Tmax: time to reach maximum (peak) concentration following drug administration

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

Study Title: Drug Metabolism and Pharmacokinetics Nonclinical Study Report

PCSSC-DSM19-006: Binding of ALN-PCSSC to Mouse, Rat, Monkey, and Human Plasma Proteins

Test Article: Inclisiran

Study No. [PCSSC-DSM19-006], **Location in CTD:** 4.2.2.3-2

Study System: *In vitro*

Method: Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)

	Mean Percent (%) Bound			
Inclisiran Concentration (µg/mL)	**Mouse**	**Rat**	**Monkey**	**Human**
50	25.2	36.1	35.7	17.0
25	50.5	67.3	64.0	43.7
10	59.9	77.7	70.0	52.3
5	74.3	86.1	78.7	75.8
1	86.3	92.5	87.0	86.4
0.5	88.2	93.1	87.7	87.4

Additional Information: Plasma protein binding was also determined in study BA14004, however, the results were considered unreliable due to nonspecific binding of inclisiran to the filter membrane in the absence of protein

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7A 薬物動態：妊娠ラットにおける試験

Study Title: An Embryo-fetal Development Study of Inclisiran by Subcutaneous Injection in Sprague Dawley Rats

Test Article: Inclisiran
Study No. [9001072], **Location in CTD:** 4.2.3.5.2-2

Species / Strain:	Sprague-Dawley Rats		
Number:	N = 9 per dose group		
Initial Age:	11-12 Weeks		
Duration of Dosing:	Day 6 pc to Day 17 pc		
Day of C-Section:	Day 17 pc		
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)		
Method of Administration:	SC		
Assay:	LC-TOF-MS		
Daily Dose (mg/kg)	**50**	**100**	**150**
Maternal Plasma		**Day 6 pc**	
Cmax (ng/mL)	11500	22800	32300
AUClast (h·ng/mL)	35700	92300	136000
		Day 17 pc	
Cmax (ng/mL)	7810	31600	30800
AUClast (h·ng/mL)	29700	94300	128000
Fetal Plasma		**Day 17 pc**	
1 hour post dose concentration (ng/mL)[a]	38.2	254	367
2 hour post dose concentration (ng/mL)[b]	154	170	89.4

[a] Pooled litters from 3 females / treated group.

[b] 1 litter at 50 and 100 mg/kg and 3 litters at 150 mg/kg.

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; Cmax: maximum concentration; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; pc: post coitum; SC: subcutaneous

2.6.5.7B 薬物動態：妊娠ウサギにおける試験

Study Title: An Embryo-Fetal Development Study of Inclisiran by Subcutaneous Injection in New Zealand White Rabbits

Test Article: Inclisiran
Study No. [9001073], **Location in CTD:** 4.2.3.5.2-4

Species / Strain:	New Zealand White Rabbits		
Number:	N = 3 per dose group		
Initial Age:	5-6 months old		
Duration of Dosing:	Day 7 pc to Day 19 pc		
Day of C-Section:	Day 20 pc		
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)		
Method of Administration:	SC		
Assay:	LC-TOF-MS		
Daily Dose (mg/kg)	**50**	**100**	**150**
Maternal Plasma		**Day 7 pc**	
Cmax (ng/mL)	13300	24100	42900
AUClast (h·ng/mL)	75200	185000	361000
		Day 19 pc	
Cmax (ng/mL)	12300	21700	25200
AUClast (h·ng/mL)	53400	193000	314000
Fetal Plasma		**Day 19 pc**	
24 hour post dose concentration (ng/mL)[a]	BQL	BQL	BQL

[a] Pooled litters from 3 females / treated group. Fetal plasma concentrations for the inclisiran treated groups were BQL in all dose groups, except in one litter at 100 mg/kg/day (10.8 ng/mL) and at 150 mg/kg/day (11.0 ng/mL).

AUClast: area under the concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; BQL: below quantitation limit (10 ng/mL); Cmax: maximum concentration; LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; pc: post coitum; SC: subcutaneous

2.6.5.7C 薬物動態：授乳動物における試験

Study Title: A Subcutaneous Injection Pre and Postnatal Developmental Toxicity Study of Inclisiran in the Sprague-Dawley Rat, Including Postnatal Behavioral and Functional Evaluations

Test Article: Inclisiran
Study No. [9001159], **Location in CTD:** 4.2.3.5.3-1

Species / Strain:	Sprague-Dawley Rats		
Number:	N = 4 per dose group		
Initial Age:	77 to 84 days old		
Duration of Dosing:	Day 6 pc to LD 11		
Litters Culled:	Day 4 pp		
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)		
Method of Administration:	SC		
Assay:	LC-TOF-MS		
Daily Dose (mg/kg)	**50**	**100**	**150**
Day of Sample Collection:		**LD 11**	
Maternal Plasma			
8 hours post dose concentration (ng/mL)	1110	8470	11200
Maternal Milk			
8 hours post dose concentration (ng/mL)	1170	3840	3970
Pup Plasma			
1 and 2 hours post dose concentration (ng/mL)	BQL	BQL	BQL

BQL: below quantitation limit (10 ng/mL); LC-TOF-MS: liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry; LD: lactation day; pc: post coitum; pp: post partum; SC: subcutaneous

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

No other distribution studies have been conducted.

2.6.5.9 薬物動態試験：*In vivo* における代謝

2.6.5.9A ラット組織中のインクリシラン主要代謝物の定量

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Bile, Feces, Liver, Kidney and Injection Site Tissue from Male Sprague-Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [508N-1717], **Location in CTD:** 4.2.2.4-2

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	Males. There were six separate metabolite analysis arms using from 1 to 6 animals per arm.
Feeding Condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	65
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol

Analyte:	**Parent AS Strand**	**AS (n-1) 5' / AS (n-1) 3'**	**AS (n-2) 5'**	**AS (n-2) 3'**
Time Point (h)	**Plasma Concentrations (ng/mL) (pooled sample from n = 6 / time point)**			
0.083	1066	25.7	BQL	BQL
0.25	1572	22.7	BQL	BQL
0.5	1817	37.3	BQL	BQL
1	1851	67.2	BQL	BQL
2	1494	44.4	BQL	BQL
4	1241	49.9	BQL	BQL
8	613.2	18.1	BQL	BQL
24	168.6	11.1	BQL	BQL

Analyte:	**Parent AS Strand**			**AS (n-1) 5' / AS (n-1) 3'**			**AS (n-2) 5'**			**AS (n-2) 3'**		
Time Point (h)	**Urine Concentrations (ng/mL)[a] (pooled sample from n = 3 / time interval / group)**											
Group #	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]
0-8	BQL	18.4	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	17.6	BQL	BQL	BQL	BQL
8-24	60241	10220	35231	2035	1972	2004	BQL	40.6	BQL	51.1	54.2	52.7
24-48	11412	4723	8068	473	939	706	BQL	17.2	BQL	BQL	BQL	BQL
48-72	4212	3299	3756	209	604	407	BQL	15.1	BQL	BQL	BQL	BQL
72-96	2687	2338	2513	165	292	229	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
96-120	1986	-	-	124	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
120-144	1538	-	-	88.3	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
144-168	1529	-	-	74.5	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
Time Point (h)	**Feces Lysate Concentrations (ng/mL)[a] (pooled sample from n = 3 / time interval / group)**											
Group #	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]	1	2	Mean[b]
0-24	35.3	15.0	25.2	BQL	BQL	BQL	16.4	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
24-48	22.8	13.0	17.9	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
48-72	15.1	10.2	12.7	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
72-96	24.9	10.2	17.6	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
96-120	16.1	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
120-144	24.7	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
144-168	13.5	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-	BQL	-	-
Time Point (h)	**Bile Concentrations (ng/mL) (pooled sample from n=3 / time interval)**											
0-4	4742			460.3			BQL			BQL		
4-8	4925			520.1			BQL			BQL		
8-24	13817			1753			BQL			BQL		
24-48	12536			1437			BQL			BQL		
48-72	6008			796.1			BQL			BQL		
72-96	4334			581			BQL			BQL		

Analyte:	Parent AS Strand	AS (n-1) 5' / AS (n-1) 3'	AS (n-2) 5'	AS (n-2) 3'
Time Point (h)	**Liver Lysate Concentrations (ng/mL) (n = 1 / time point)**			
1	4645.7	100.9	BQL	BQL
4	17797.5	398.9	BQL	BQL
24	17883.2	509.1	BQL	BQL
72	11008.2	382.5	BQL	BQL
120	11851.2	488.6	BQL	BQL
168	3997.3	245.7	BQL	BQL
336	879.3	48.5	BQL	BQL
1008	57.2	BQL	BQL	BQL
1032	78.9	BQL	BQL	BQL
Time Point (h)	**Kidney Lysate Concentrations (ng/mL) (n = 1 / time point)**			
1	3541.8	31.5	BQL	BQL
4	4649.6	60.4	BQL	BQL
24	3789.5	64.4	BQL	BQL
72	3461.5	74.5	BQL	BQL
120	2254.8	61.6	BQL	BQL
168	1983.5	60.8	BQL	BQL
336	714.5	25.8	BQL	BQL
1008	190.0	BQL	BQL	BQL
1032	88.5	BQL	BQL	BQL
Additional Information:	The purpose of the study was to identify and quantitate the major metabolites of the AS strand of inclisiran which is the active strand. The AS strand contains the same nucleotide (2'-OMe-adenosine) on both ends and it was not possible to distinguish between AS(n-1)5' and AS(n-1)3'. S strand metabolism also occurred, and it was necessary to differentiate those metabolites from the observed AS strand metabolites even though it was beyond the scope of the study. The major S strand metabolites resulted from sequential loss on the 3' end of the three GalNAc groups, S-1, S-2 and S-3Gal, followed by the sequential loss of each of their associated linker groups. S strand metabolites were not quantitated.			

[a] there were two separate groups of animals sampled for urine and feces and results are reported separately

[b] results are reported as BQL if one group was below limit of detection.

-: not collected; AS: antisense; BQL: below quantitation limit (< 10.0 ng/mL for parent and < 15.0 ng/mL for metabolites); GalNAc: N-acetylgalactosamine; S: sense; SC: subcutaneous

2.6.5.9B　サル組織中のインクリシラン主要代謝物の定量

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Feces, Liver and Kidney from Male Cynomolgus Monkeys Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [508N-1722], **Location in CTD:** 4.2.2.4-3

Species:	Cynomolgus Monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	M / 12
Feeding Condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	20
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol

Analyte:	**Parent AS Strand**	**AS (n-1) 5' / AS (n-1) 3'**	**AS (n-2) 5'**	**AS (n-2) 3'**
Time Point (h)	**Plasma Concentrations (ng/mL) (pooled sample from n = 5 to 7 / time point)**			
0.083	249.8	BQL	BQL	BQL
0.25	734.7	16.6	BQL	BQL
0.5	1014	34.7	BQL	BQL
1	1300	50.9	BQL	BQL
2	1374	57.4	BQL	BQL
4	1407	58.0	BQL	BQL
8	1036	47.4	BQL	BQL
24	54.1	BQL	BQL	BQL
Time Point (h)	**Urine Concentrations (ng/mL) (pooled sample from n = 5 / time interval)**			
0-8	7723	2660	52.1	BQL
8-24	7260	3112	36.8	BQL
24-48	1682	149.5	BQL	BQL
48-72	836.5	79.3	BQL	BQL
Time Point (h)	**Liver Concentrations (ng/mL) (n = 1 / time point)**			
4	1548	155.9	53.1	30.3
24	5553	586.2	85.2	BQL

Analyte:	Parent AS Strand	AS (n-1) 5' / AS (n-1) 3'	AS (n-2) 5'	AS (n-2) 3'
Time Point (h)	**Liver Concentrations (ng/mL) (n = 1 / time point)**			
672	3027	401.3	100.5	BQL
Time Point (h)	**Kidney Concentrations (ng/mL) (n = 1 / time point)**			
4	296.6	20.6	BQL	BQL
24	275.9	21.6	BQL	BQL
672	150.2	15.6	BQL	BQL
Additional Information:	The purpose of the study was to identify and quantitate the major metabolites of the AS strand of inclisiran which is the active strand. The AS strand contains the same nucleotide (2'-OMe-adenosine) on both ends and it was not possible to distinguish between AS(n-1)5' and AS(n-1)3'. S strand metabolism also occurred, and it was necessary to differentiate those metabolites from the observed AS strand metabolites even though it was beyond the scope of the study. The major S strand metabolites resulted from sequential loss on the 3' end of the three GalNAc groups, S-1, S-2 and S-3Gal, followed by the sequential loss of each of their associated linker groups. S strand metabolites were not quantitated.			

AS: antisense; BQL: below quantitation limit (Plasma: Parent and metabolites: 10 ng/mL; Urine, Liver and Kidney: Parent and AS(n-1): 10 ng/mL, AS(n-2)5': 13 ng/mL, AS(n-2)3': 15 ng/mL); GalNAc: N-acetylgalactosamine; M: male; S: sense; SC: subcutaneous

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝

2.6.5.10A　マウス，ラット，サル，及びヒトの血清及び S9 画分におけるインクリシランの *in vitro* 代謝安定性

Study Title: *In vitro* Metabolic Stability of ALN-60212 in Mouse, Rat, Monkey, and Human Serum and Liver S9-fractions, and *in vitro* and *in vivo* Metabolic Profiling of ALN-60212

Test Article: Inclisiran
Study No. [BA14008], **Location in CTD:** 4.2.2.4-1

Time (h)	Average Antisense and Sense Remaining (%) to Baseline in Serum							
	Mouse		Rat		Monkey		Human	
	AS	S	AS	S	AS	S	AS	S
0	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	101	100	101	101	91	94	97	97
1	107	102	104	102	94	98	97	96
2	100	101	93	93	88	94	90	95
4	99	99	88	93	86	91	88	94
6	102	106	90	94	88	98	85	87
8	91	96	81	91	85	95	94	96
24	85	95	82	91	72	91	80	87
	Average Antisense and Sense Remaining (%) to Baseline in Liver S9 Fractions							
0	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	96	101	103	111	108	113	98	106
1	105	109	102	111	92	98	89	102
2	96	105	87	104	104	109	86	104
4	92	99	77	102	88	103	70	98
7	90	99	66	102	85	100	54	94
24	85	94	43	64	63	87	41	71

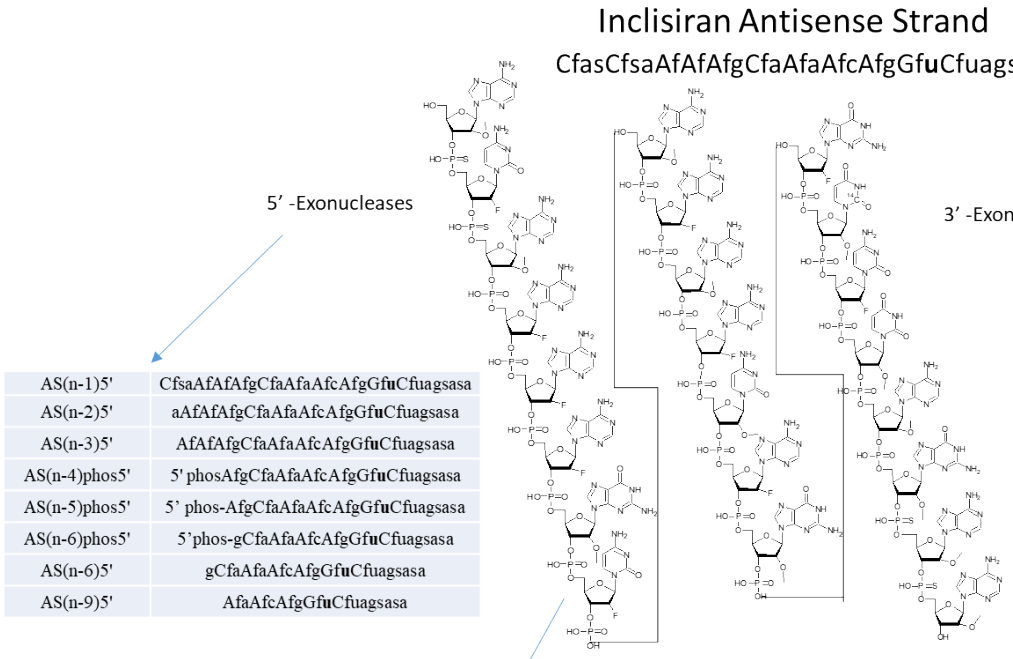
AS: antisense; S: sense

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.11A　ラットにおけるインクリシランアンチセンス鎖の推定代謝経路

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Bile, Feces, Liver, Kidney and Injection Site Tissue from Male Sprague-Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

Test Article: [^{14}C]-inclisiran
Study No. [508N-1717], **Location in CTD:** 4.2.2.4-2



AS(n-1)5'	CfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-2)5'	aAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-3)5'	AfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-4)phos5'	5' phosAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-5)phos5'	5’ phos-AfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-6)phos5'	5’phos-gCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-6)5'	gCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-9)5'	AfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa

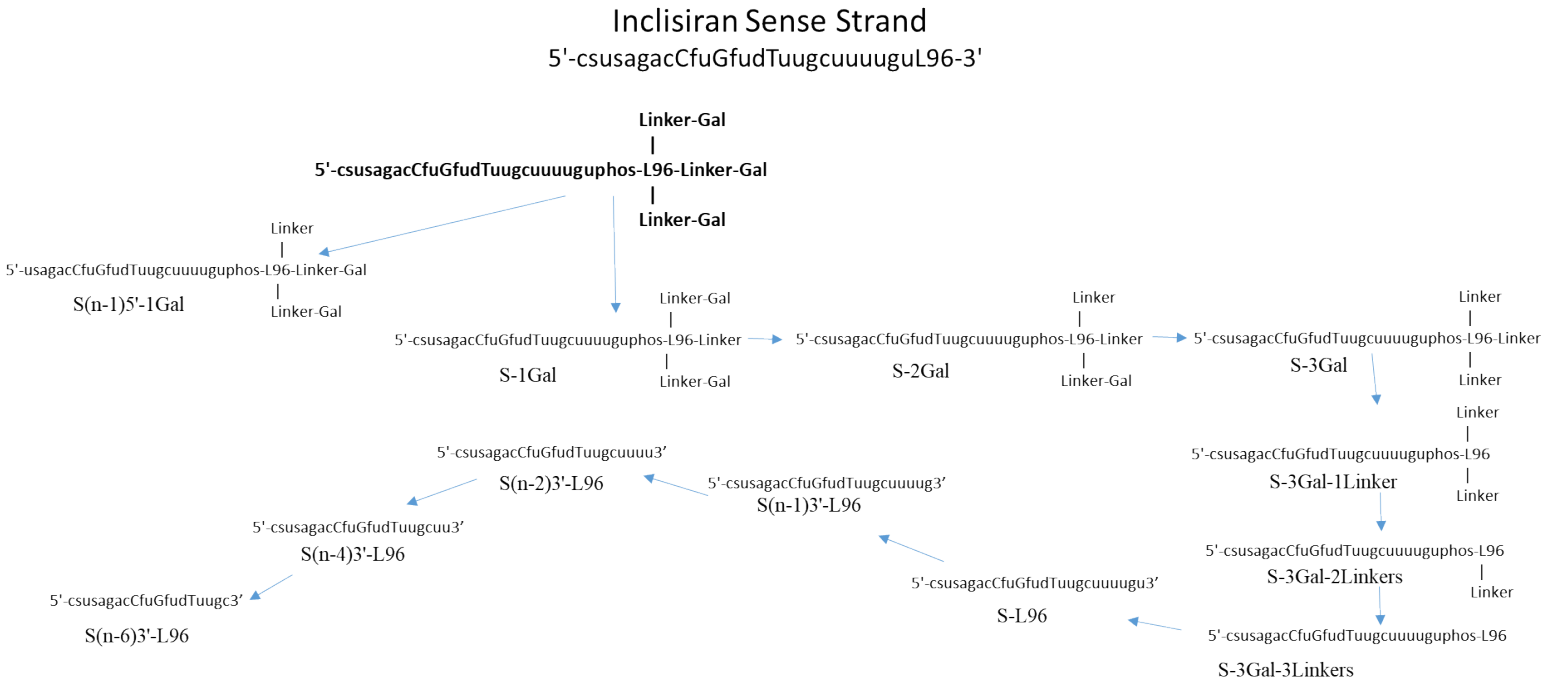
AS(n-1)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsa
AS(n-2)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuag
AS(n-3)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfua
AS(n-4)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfu
AS(n-5)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cf
AS(n-6)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**-phos3’
AS(n-7)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf
AS(n-8)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfg
AS(n-10)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfc

AS-DS	asCfasCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**CfuagOa or aOCfasCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsa

2.6.5.11B　ラットにおけるインクリシランセンス鎖の推定代謝経路

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Bile, Feces, Liver, Kidney and Injection Site Tissue from Male Sprague-Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

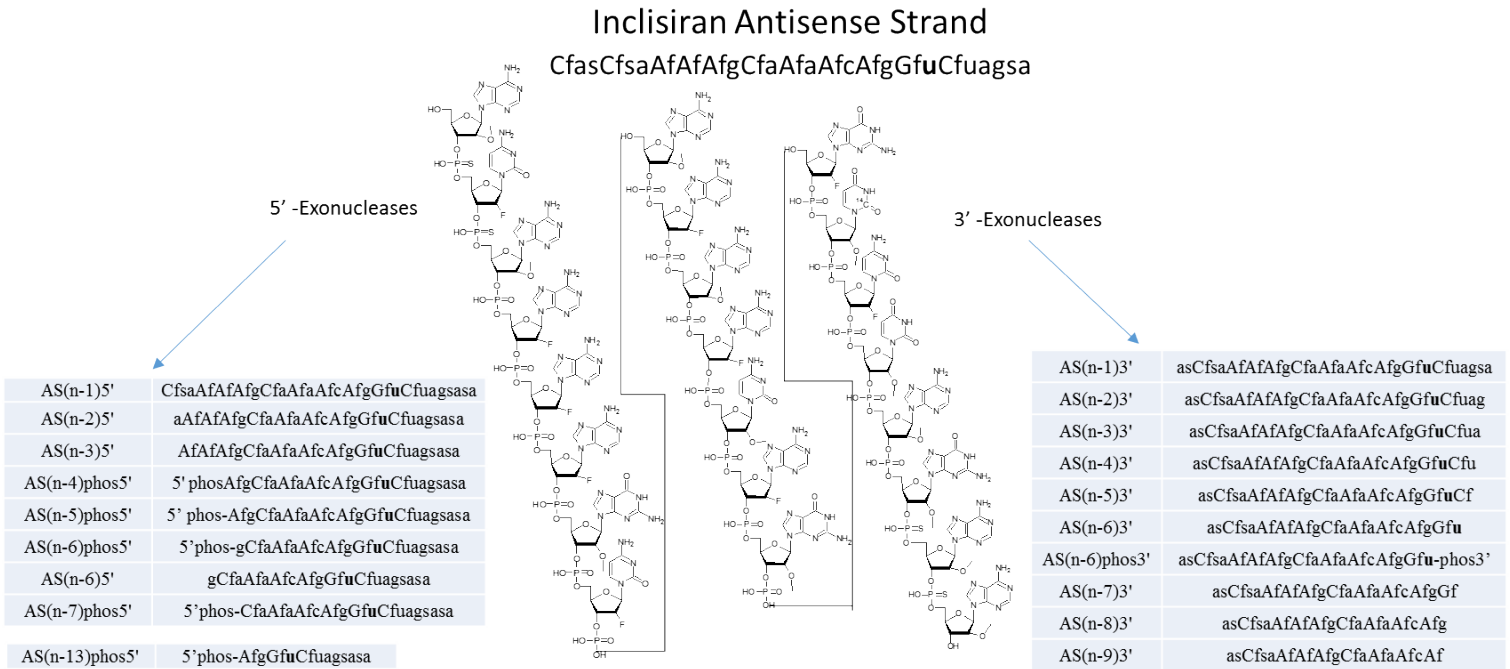
Test Article: [^{14}C]-inclisiran
Study No. [508N-1717], **Location in CTD:** 4.2.2.4-2



2.6.5.11C　サルにおけるインクリシランアンチセンス鎖の推定代謝経路

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Feces, Liver and Kidney from Male Cynomolgus Monkeys Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

Test Article: [^{14}C]-inclisiran
Study No. [508N-1722], **Location in CTD:** 4.2.2.4-3



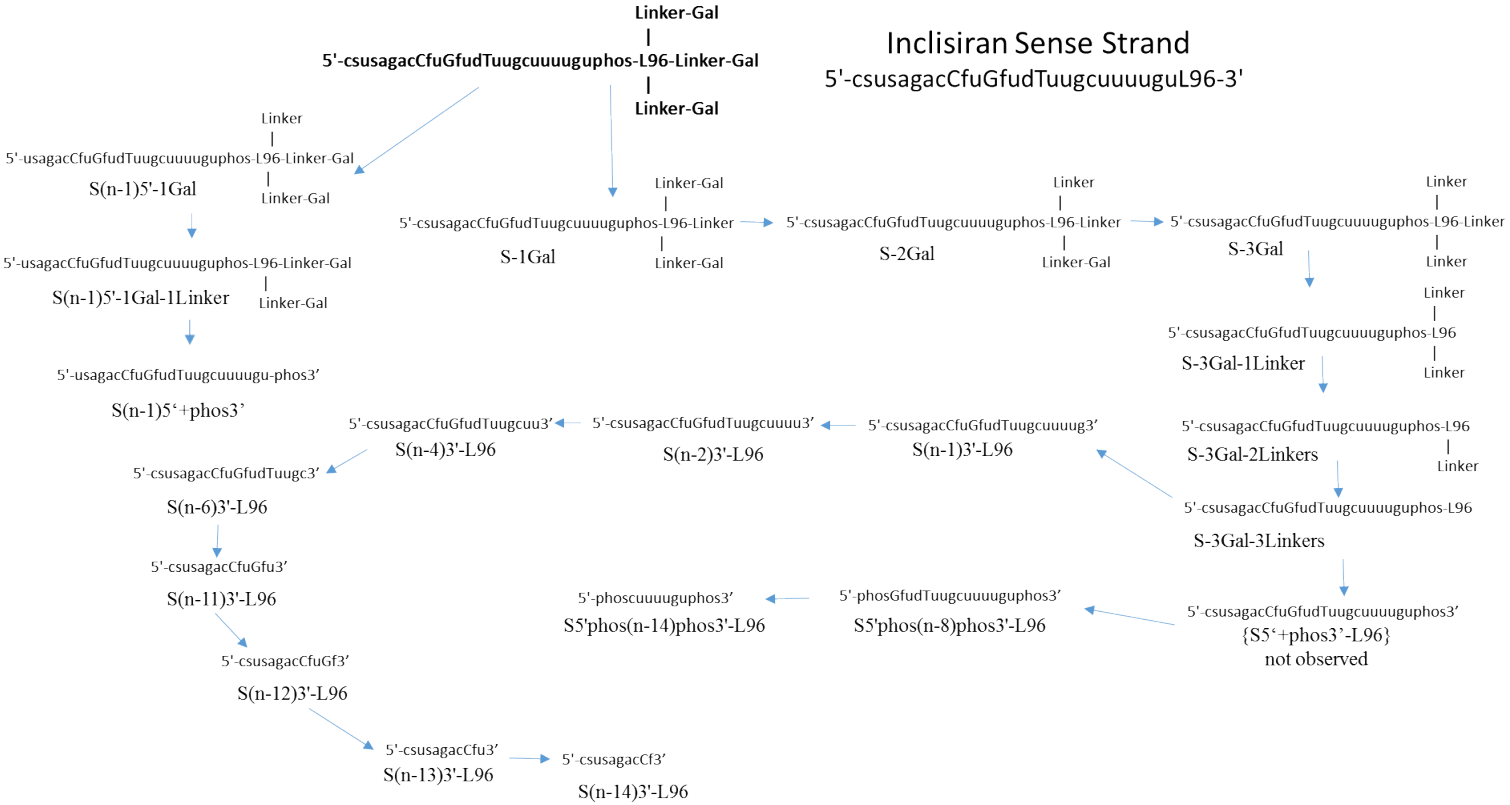
AS(n-1)5'	CfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-2)5'	aAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-3)5'	AfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-4)phos5'	5' phosAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-5)phos5'	5’ phos-AfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-6)phos5'	5’phos-gCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-6)5'	gCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-7)phos5'	5’phos-CfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-13)phos5'	5’phos-AfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-14)phos5'	5’phos-gGf**u**Cfuagsasa
AS(n-14)5'	gGfuCf**u**agsasa
AS(n-15)phos5'	5’phos-AfgGf**u**Cfuagsasa
AS(n-16)phos5'	5’phos-**u**Cfuagsasa
AS(n-17)phos5’	5’phos-Cfuagsasa
AS(n-18)phos5’	5’phos-uagsasa
AS(n-18)5’	5’phos-uagsasa
AS(n-19)phos5’	uagsasa

AS(n-1)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuagsa
AS(n-2)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfuag
AS(n-3)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfua
AS(n-4)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cfu
AS(n-5)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**Cf
AS(n-6)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**
AS(n-6)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf**u**-phos3’
AS(n-7)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGf
AS(n-8)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfg
AS(n-9)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAf
AS(n-10)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfc
AS(n-11)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf
AS(n-12)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfa
AS(n-12)phos3'	asCfsaAfAfAfgCfaAfaAf-phos3’
AS(n-13)3'	asCfsaAfAfAfgCfaAf
AS(n-15)3'	asCfsaAfAfAfgCf
AS(n-17)3'	asCfsaAfAfAf
AS(n-18)3'	asCfsaAfAf

2.6.5.11D　サルにおけるインクリシランセンス鎖の推定代謝経路

Study Title: Metabolite Identification and Profiling in Plasma, Urine, Feces, Liver and Kidney from Male Cynomolgus Monkeys Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-Inclisiran

Test Article: [^{14}C]-inclisiran
Study No. [508N-1722], **Location in CTD:** 4.2.2.4-3



2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12A *In vitro* における CYP 阻害

Study Title: ALN-PCSSC: Evaluation of the Direct and Time-dependent Inhibitory Potential Against Seven Human Cytochrome P450 Isoforms Using Human Liver Microsomes

Test Article: Inclisiran

Study No. [319N-1401], **Location in CTD:** 4.2.2.6-1

Method: The direct and time-dependent inhibitory potential of inclisiran towards seven human cytochrome P450 isoforms (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4/5) using pooled HLM and CYP-specific marker substrate reactions. Time-dependent inhibition potential was assessed by pre-incubating HLM with inclisiran in the presence and absence of NADPH. The residual CYP isoform activity was analyzed by incubation of each pre-incubation mixture with the respective probe substrate. The substrate reactions were CYP1A2-mediated phenacetin O-deethylation, CYP2B6-mediated bupropion hydroxylation, CYP2C8-mediated paclitaxel 6α-hydroxylation, CYP2C9-mediated diclofenac 4'- hydroxylation, CYP2C19-mediated S-mephenytoin 4'-hydroxylation, CYP2D6-mediated dextromethorphan O-demethylation and CYP3A4/5-mediated midazolam 1'-hydroxylation and testosterone 6β-hydroxylation.

Direct Inhibition (% Vehicle Control)

Inclisiran Concentration (µM)	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4/5[a]	CYP3A4/5[b]
0	100	100	100	100	100	100	100	100
0.0006	99	99	98	102	102	97	98	97
0.061	97	98	99	99	102	98	98	97
0.61	96	95	98	100	101	95	98	100
3.06	96	92	97	101	100	97	97	102
6.12	96	93	96	100	97	97	99	101
30.6	96	95	97	103	102	96	95	102
61.2	99	94	101	100	97	97	97	101
306	88	90	100	99	92	93	92	96
612	87	81	96	96	85	92	92	90

No Inhibition

	Time Dependent Inhibition (% Vehicle Control)															
	CYP1A2		**CYP2B6**		**CYP2C8**		**CYP2C9**		**CYP2C19**		**CYP2D6**		**CYP3A4/5[a]**		**CYP3A4/5[b]**	
Inclisiran (µM)	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH	+ NADPH	- NADPH
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.0006	106.9	97.9	97.1	97.1	99.1	101.3	97.5	98.4	94.8	97.9	100.7	100.4	103.7	107.3	101.9	98.4
0.061	108.1	99.9	92.6	96.0	101.8	101.2	99.1	97.4	91.7	96.1	98.1	98.2	116.6	112.1	102.5	94.5
0.61	105.6	96.7	89.1	96.1	98.9	98.0	97.9	102.3	92.8	94.5	97.8	97.8	114.7	119.2	102.0	96.9
3.06	107.4	101.3	93.0	95.4	98.8	104.9	99.0	99.2	94.7	95.4	99.5	100.4	129.4	125.3	101.3	95.3
6.12	105.3	101.3	91.5	96.8	92.5	105.3	97.2	99.7	93.2	94.8	100.0	103.5	128.6	131.2	102.7	96.4
30.6	107.4	101.2	92.5	95.4	98.9	106.5	95.8	96.6	96.7	95.1	97.9	102.0	142.5	141.9	101.8	96.1
61.2	109.2	104.2	91.9	95.1	97.2	100.6	97.5	100.2	95.3	94.9	96.3	100.2	144.9	145.5	102.7	93.5
306	114.0	101.0	91.4	95.0	92.7	101.6	95.5	98.6	94.2	95.5	100.7	99.5	146.2	146.7	101.6	95.3
612	112.9	97.2	88.9	93.1	103.3	105.0	99.2	99.1	92.8	95.4	100.1	100.5	151.6	154.2	102.5	97.1
	No Inhibition															

[a] Midazolam was used as the probe substrate

[b] Testosterone was used as the probe substrate

CYP: cytochrome P450; HLM: human liver microsomes; NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

2.6.5.12B *In vitro* における CYP 誘導

Study Title: Evaluation of the potential of inclisiran to induce CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 in cultured human hepatocytes

Test Article: Inclisiran
Study No. [508N-1606], **Location in CTD:** 4.2.2.6-2

Method: Evaluation of the degree of CYP induction was performed using cryopreserved human hepatocytes from three donors and comparing the changes in mRNA expression by RT-PCR (TaqMan) due to inclisiran to those caused by established reference compounds and vehicle control. Fold changes in mRNA levels above recommended thresholds were used to establish demonstrable induction *in vitro* according to accepted criteria as stated in the current FDA guidance document on drug interactions. Induction was considered positive if there was an increase in mRNA ≥ 2 fold above vehicle control.

Fold mRNA Changes in Hepatocytes Treated with Inclisiran

Inclisiran Concentration	**23.5 nM**	**235 nM**	**1175 nM**
Donor No.		**CYP1A2**	
1	0.95	0.70	0.85
2	1.60	1.81	1.92
3	1.17	1.02	0.98
		CYP2B6	
1	0.63	0.50	0.62
2	1.02	1.13	1.15
3	0.66	0.57	0.45
		CYP3A4	
1	0.44	0.38	0.58
2	1.02	1.00	0.83
3	0.76	0.70	0.68

CYP: cytochrome P450; FDA: Food and Drug Administration; mRNA: messenger RNA; RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

2.6.5.13A　ラットにインクリシランを単回皮下投与したときの尿及び糞中排泄

Study Title: The Pharmacokinetics, Bioavailability, Tissue Distribution and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Sprague-Dawley Rats

Test Article: Inclisiran
Study No. [8301499], **Location in CTD:** 4.2.2.2-1

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	M:5 / group; F:5 / group
Feeding condition:	Not Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose:	25 mg/kg
Analyte:	Inclisiran
Assay:	HPLC Atto-probe method with fluorescence detection

Sex	**Male**			**Female**		
	Percent (%) of Total Dose Excreted					
Collection Time (h)	**Urine (Mean ± SD)**	**Feces (Mean ± SD)**	**Total**	**Urine (Mean ± SD)**	**Feces (Mean ± SD)**	**Total**
0-8	31.8 ± 10.6	3.3 ± 2.2	35.1	22.0 ± 3.8	2.2 ± 1.0	24.2
8-24	4.2 ± 2.6	0.0 ± 0.0	4.2	2.2 ± 1.8	0.0 ± 0.0	2.2
24-48	1.8 ± 0.8	9.7 ± 3.6	11.5	1.2 ± 0.8	0.0 ± 0.0	1.2
Total	37.8 ± 10.5	13.0 ± 4.6	50.8	25.4 ± 4.1	2.2 ± 1.0	27.6

F: female; HPLC: high performance liquid chromatography; M: male; SC: subcutaneous; SD: standard deviation

2.6.5.13B　ラットに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときのマスバランス

Study Title: Excretion Mass Balance, Pharmacokinetics, Tissue Distribution by Quantitative Whole-Body Autoradiography, and Biodistribution of Radioactivity in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration of [^{14}C]-inclisiran

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [508-1716], **Location in CTD:** 4.2.2.2-3

Species:	Sprague-Dawley Rats
Gender (M / F) / Number of animals:	Male / 3 / Group
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	65
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisiran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol
Target Radioactivity Level:	~150-200 µCi/kg
Analysis:	LSC

	Recovery (% of Administered Dose, Mean ± SD)				
Collection Time (h)	**Urine (1)**	**Feces (1)**	**Urine (2)**	**Feces (2)**	**Bile (2)**
0-8	19.447 ± 2.507	-	17.201 ± 2.081	-	0.650 ± 0.211[b]
8-24	3.978 ± 0.054	2.253 ± 0.464[a]	2.915 ± 0.921	0.224 ± 0.093[a]	5.593 ± 3.789
24-48	2.192 ± 0.311	8.209 ± 0.159	1.983 ± 0.776	0.218 ± 0.077	6.628 ± 3.153
48-72	1.248 ± 0.035	6.138 ± 1.351	1.616 ± 0.706	0.118 ± 0.062	4.011 ± 1.719
72-96	0.860 ± 0.043	2.768 ± 0.464	1.133 ± 0.477	0.111 ± 0.012	2.706 ± 1.180
96-120	0.636 ± 0.042	1.774 ± 0.406	-	-	-
120-144	0.634 ± 0.033	1.103 ± 0.245	-	-	-
144-168	0.455 ± 0.044	0.787 ± 0.227	-	-	-
Total	29.449 ± 2.460	23.033 ± 0.989	24.848 ± 1.435	0.672 ± 0.192	19.589 ± 7.005

[a] feces sample collected from 0-24 hours

[b] this is the combined % from samples that were collected from 0-4 hours (0.331%) and 4-8 hours (0.319%). Note: there were two separate group of animals (1) and (2) used for excreta collection. The Group (1) animals were intact and the Group (2) animals were bile duct cannulated.

-: not collected; LSC: liquid scintillation counting; SC: subcutaneous; SD: standard deviation

2.6.5.13C　サルにインクリシランを単回皮下投与したときの尿及び糞中排泄

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ALN-PCSSC After a Single Intravenous, or Single or Multiple Subcutaneous, Doses to Cynomolgus Monkeys

Test Article: Inclisiran
Study No. [8299434], **Location in CTD:** 4.2.1.1-6

Species:	Cynomolgus monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	M:4; F:4
Feeding condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose:	6 mg/kg
Analyte:	Inclisiran
Assay:	HPLC Atto-probe method with fluorescence detection

Sex	**Male**			**Female**		
	Percent (%) of Total Dose Excreted (Mean ± SD)					
Collection Time (h)	**Urine**	**Feces[a]**	**Total**	**Urine**	**Feces[b]**	**Total**
0-24	15.6 ± 6.2	NA[c]	15.6 ± 6.2	14.9 ± 8.3	NA[c]	14.9 ± 8.3
24-48	0.1 ± 0.1	NA[c]	0.1 ± 0.1	NA[c]	NA[c]	0
Total	15.7 ± 6.3		15.7 ± 6.3	14.9 ± 8.3		14.9 ± 8.3

[a] male LLOQ = 45 ng/g

[b] female LLOQ = 30 ng/g

[c] Inclisiran concentrations in the samples were below the LLOQ.

F: female; HPLC: high performance liquid chromatography; M: male; NA: not applicable; SC: subcutaneous; SD: standard deviation

2.6.5.13D　サルに[^{14}C]-インクリシランを単回皮下投与したときの排泄

Study Title: [^{14}C]-Inclisiran: The Distribution, Metabolism and Excretion of [^{14}C]-Inclisiran Following Single Subcutaneous Administration in the Male Cynomolgus Monkey

Test Article: [^{14}C]-Inclisiran

Study No. [175986], **Location in CTD:** 4.2.2.2-4

Species:	Cynomolgus monkeys
Gender (M / F) / Number of animals:	M / 5
Feeding condition:	Fed
Vehicle / Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection (Sterile Saline)
Method of Administration:	SC
Dose (mg/kg):	20
Radionuclide:	[^{14}C]-inclisiran
Specific Activity:	51.5 Ci/mol
Target Radioactivity Level:	54 µCi/kg
Analysis:	LSC

	Cumulative Radioactivity Recovered (%)		
Collection Time Point (h)	**Urine (Mean ± SD)**	**Feces (Mean ± SD)**	**Total**
8	7.0 ± 6.2		7.0
24	28.9 ± 3.0	0.5 ± 0.1[a]	29.4
48	29.6 ± 3.1	1.1 ± 0.3	30.7
72	30.2 ± 3.2	1.3 ± 0.3	31.5
96	30.6 ± 3.2	1.4 ± 0.3	32.0
120	31.0 ± 3.3	1.5 ± 0.4	32.5
144	31.4 ± 3.3	1.6 ± 0.4	33.0
168	31.7 ± 3.4	1.6 ± 0.4	33.3
312-336[b]	31.9 ± 3.4	1.7 ± 0.4	33.6

[a] sample was collected from 0-24 hours

[b] The initial collection period ended at 168 h and then resumed between 312 and 336 hours

LSC: liquid scintillation counting; M: male

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

Please see Table 2.6.5.13B for excretion into bile.

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15A　*In vitro* におけるヒト ABC 及び SLC トランスポーターの阻害及び基質の可能性評価

Study Title: (508N-1605) Inclisiran: Evaluation of Compound Interactions with Nine Transport Proteins Using Transfected HEK293 and MDCKII Cell Lines (508N-1903) Inclisiran: Evaluation as a substrate and inhibitor of OCT1, OCT3 and BSEP transport proteins	**Test Article:** Inclisiran **Study Nos.** [508N-1605] and [508N-1903], **Location in CTD:** 4.2.2.6-3 and 4.2.2.6-4
Type of Study:	Substrate and inhibition interactions were investigated for human Multidrug Resistance Protein 1 (MDR1 / P-gp), Breast Cancer Resistance Protein (BCRP), Organic Anion Transporter 1 and 3 (OAT1 and OAT3), Organic Cation Transporter 1,2 and 3 (OCT1, OCT2 and OCT3), Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1 and 1B3 (OATP1B1 and OATP1B3), the Multidrug and Toxin Extrusion Protein 1 and 2k (MATE1 and MATE2-K), and the Bile Salt Export Pump (BSEP, ABCB11).
Methods:	All incubations were conducted in stably transfected MDCKII (MDR1 and BCRP) or HEK293 (OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, OATB1B1, OATP1B3, MATE1, and MATE2-K) cell lines. Transiently transfected MDCKII cells were used for OCT3 and transiently transfected BSEP vesicles were made from HEK293 cells. Wild-type MDCKII or mock transfected HEK293 cell lines as well as control inhibitors were included as negative transport controls in all substrate assays. Positive transport control incubations with probe substrates were also included. Probe substrate transport inhibition was performed with 20350 ng/mL (1.177 µM) inclisiran. Incubations with control inhibitors were included as positive inhibition controls. Inclisiran concentrations were 2035, 4070, 20350, and 203500 ng/mL.
Results:	No statistically significant ($p < 0.05$) active inclisiran transport or substrate transport inhibition was observed for any transporter up to a concentration of 203500 ng/mL, the highest concentration of inclisiran tested.

ABC: ATP-binding cassette; BCRP: breast cancer resistance protein; BSEP: bile salt export pump; MATE: multidrug and toxin extrusion; MDR: multidrug resistance; OAT: organic anion transporter; OATP: organic anion transporting polypeptide; OCT: organic cation transporter; P-gp: P-glycoprotein; SLC: solute carrier

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

No other pharmacokinetic studies have been conducted with inclisiran.