

INHALTSVERZEICHNIS

TABELLENVERZEICHNIS.....	1
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	1
In diesem Abschnitt verwendete Begriffe und Abkürzungen.....	2
1. Zusammenfassung	3
2. Analytische Methoden.....	4
3. Absorption.....	4
4. Verteilung.....	5
5. Stoffwechsel.....	7
6. Ausscheidung.....	9
7. Pharmakokinetische Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln.....	9
8. Weitere pharmakokinetische Studien.....	9
9. Diskussion und Schlussfolgerungen	9
10. Diagramme und Tabellen.....	10
Referenzen.....	10

TABELLENLISTE

Tabelle 1: In Luciferase-RNA eingekapselte LNPs wurden Wistar-Han-Ratten in einer Dosis von 1 mg RNA/kg intravenös verabreicht. Pharmakokinetik von ALC-0315 und ALC-0159 nach intravenöser Verabreichung	4
--	---

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1. In Luciferase-RNA eingekapselte LNPs wurden Wistar-Han-Ratten in einer Dosis von 1 mg RNA/kg intravenös injiziert. Plasma- und Leberkonzentrationen von ALC-0315 und ALC-0159 nach intravenöser Verabreichung.....	5
Abbildung 2: In-vivo-Ergebnisse bei BALB/c-Mäusen nach intramuskulärer Verabreichung von Luciferase-RNA-eingekapselten LNPs. Beleuchtung.....	6
Abbildung 3: Mögliche Stoffwechselwege von ALC-0315 in verschiedenen Tierarten in vivo	8
Abbildung 4. Mögliche Stoffwechselwege von ALC-0159 in verschiedenen Tierarten	9

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.4 Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

In diesem Abschnitt verwendete Begriffe und Abkürzungen

Begriffe und Abkürzungen	Vollständiger Ausdruck oder Definition
ALC-0159 PEG-Lipid	Lipid zu diesem Medikament hinzugefügt
ALC-0315 Aminolipide	, die diesem Medikament hinzugefügt wurden
[³ H]-WAS	Radioaktiv markierter [Cholesteryl-1,2- ³ H(N)]-Cholesterylhexadecylether: 1,2- ³ H (N) Hexadecylether
DSPC	1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin: 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin <small>Phosphorsäure</small>
GLP	Gute Laborpraxis: Standards für die Durchführung nichtklinischer Studien zur Arzneimittelsicherheit
LNP	Lipid-Nanopartikel: Lipid-Nanopartikel
blueRNA	Nukleosidmodifizierte mRNA: Modifizierte Nukleosid-mRNA
mRNA	Messenger-RNA
m/z	m/z (m über z): Die Masse eines Ions geteilt durch die vereinheitlichte atomare Masseneinheit (= Dalton) <small>Die dimensionslose Größe, die man durch Division der berechneten dimensionslosen Größe durch den Absolutwert der Ladungszahl des Ions erhält, ist</small>
PFLOCK	Polyethylenglykol
PK	Pharmakokinetik
RNA	Ribonukleinsäure
<small>Stapel 9</small>	Überstandsfraktion, die aus Leberhomogenat durch Zentrifugieren bei 9000 g gewonnen wurde: Die Überstandsfraktion wurde bei 9000 g zentrifugiert.
WER	Weltgesundheitsorganisation

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4

Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

1. Zusammenfassung

BNT162b2 (BioNTech-Codenummer: BNT162, Pfizer-Codenummer: PF-07302048) ist eine modifizierte Nukleosid-mRNA (modRNA), die das vollständige Spike-Glykoprotein (S-Protein) des schweren akuten respiratorischen Syndroms Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) kodiert und als Grundlage eines mRNA-Impfstoffs gegen eine Infektion mit SARS-CoV-2 entwickelt wird. Zur Formulierung von BNT162b2 werden Lipidnanopartikel (LNPs), die BNT162b2 einkapseln, durch Mischen von zwei funktionellen Lipiden, ALC-0315 (Aminolipid) und ALC-0159 (PEG-Lipid), mit zwei Strukturlipiden, DSPC (1,2-Distearoyl-sn-glycerol-3-phosphocholin) und Cholesterin (im Folgenden „BNT162b2-einkapselnde LNPs“), gebildet.

Um die nichtklinische Pharmakokinetik von BNT162b2-verkapselten LNPs zu bewerten, führten wir eine pharmakokinetische Studie von ALC-0315 durch und Es wurden In-vivo- und In-vitro-Studien zur Bewertung der Absorption (PK), des Stoffwechsels und der Ausscheidung von ALC-0159 durchgeführt, sowie Bioverteilungsstudien unter Verwendung von Luciferase oder radioaktiv markierten Lipiden als Ersatzreporter für BNT162b2.

Da bei der Entwicklung von Impfstoffen zur Vorbeugung von Infektionskrankheiten keine Bewertung der systemischen Exposition erforderlich ist (WHO, 2005; Richtlinien für nichtklinische Studien mit Impfstoffen zur Vorbeugung von Infektionskrankheiten),^{1,2} wurde keine PK-Studie mit intramuskulärer Verabreichung von BNT162b2-einkapselndem LNP durchgeführt. Darüber hinaus handelt es sich bei den beiden anderen in diesem Arzneimittel enthaltenen Lipidarten (Cholesterin und DSPC) um natürlich vorkommende Lipide, von denen man annimmt, dass sie auf die gleiche Weise wie endogene Lipide verstoffwechselt und ausgeschieden werden. Darüber hinaus wird erwartet, dass BNT162b2 in den Zellen, in die es aufgenommen wird, durch Ribonukleasen abgebaut und durch Nukleinsäuren metabolisiert wird. Außerdem wird erwartet, dass das aus BNT162b2 stammende S-Protein einer Proteolyse unterliegt. Auf dieser Grundlage wurde davon ausgegangen, dass keine weitere Untersuchung des Stoffwechsels und der Ausscheidung dieser Komponenten erforderlich ist.

In einer PK-Studie wurden Wistar-Han-Ratten intravenös LNPs verabreicht, die RNA einkapseln, die Luciferase als Ersatzreporter für BNT162b2 kodiert (Luciferase-RNA einkapselnd in LNPs mit der gleichen Lipidzusammensetzung wie BNT162b2-einkapselnde LNPs: im Folgenden als „Luciferase-RNA-einkapselnde LNPs“ bezeichnet). Im Laufe der Zeit wurden Plasma-, Urin-, Stuhl- und Leberproben gesammelt und die Konzentrationen von ALC-0315 und ALC-0159 in jeder Probe gemessen. Die Ergebnisse zeigten, dass ALC-0315 und ALC-0159 schnell vom Blut in die Leber verteilt wurden. Darüber hinaus wurden etwa 1 % bzw. 50 % der verabreichten Dosis von ALC-0315 und ALC-0159 unverändert über den Stuhl ausgeschieden und beide Werte lagen im Urin unter der Nachweisgrenze.

In der Bioverteilungsstudie wurden in Luciferase-RNA einkapselnde LNPs BALB/c-Mäusen intramuskulär verabreicht. Als Ergebnis wurde eine Luciferase-Expression an der Injektionsstelle beobachtet und, obwohl das Expressionsniveau niedriger war, auch in der Leber. Die Luciferase-Expression an der Injektionsstelle wurde 6 Stunden nach der Injektion beobachtet und verschwand am 9. Tag nach der Injektion. Die Expression in der Leber wurde auch 6 Stunden nach der Verabreichung beobachtet und verschwand innerhalb von 48 Stunden nach der Verabreichung. Darüber hinaus wurde Ratten radioaktiv markiertes, in Luciferase-RNA einkapselndes LNP intramuskulär verabreicht und die Verteilung im Körper quantitativ ausgewertet. Dabei war die Radioaktivitätskonzentration an der Injektionsstelle am höchsten. Außerhalb der Injektionsstelle wurde die höchste Konzentration in der Leber festgestellt (bis zu 18 % der verabreichten Dosis).

Der Stoffwechsel von ALC-0315 und ALC-0159 wurde in vitro mithilfe von Blut, Lebermikrosomen, Leber-S9-Fractionen und Hepatozyten von CD-1/ICR-Mäusen, Wistar-Han- oder Sprague-Dawley-Ratten, Cynomolgus-Affen oder Menschen untersucht. Darüber hinaus wurde der In-vivo-Stoffwechsel auch anhand von Plasma-, Urin-, Kot- und Leberproben untersucht, die im Rahmen der oben genannten intravenösen PK-Studie an Ratten gesammelt wurden. Diese In-vitro- und In-vitro-Studien zeigten, dass ALC-0315 und Es zeigte sich, dass ALC-0159 bei allen getesteten Tierarten langsam durch Hydrolyse der Ester- bzw. Amidbindungen metabolisiert wurde.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.4 Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

Die obige nichtklinische pharmakokinetische Bewertung zeigte, dass LNPs, die ins zirkulierende Blut gelangen, in die Leber verteilt werden.

Darüber hinaus waren Stoffwechsel und Stuhlausscheidung an der Elimination von ALC-0315 bzw. ALC-0159 beteiligt.

wurde vorgeschlagen.

2. Analytische Methode

Berichtsnummer: PF-07302048_06_072424

In einer nicht-GLP-konformen intravenösen PK-Studie an Ratten (Abschnitt M2.6.4.3) wurden die Lipidbestandteile von LNP, ALC-0315 und

Zur Quantifizierung der ALC-0159-Konzentrationen wurde eine LC/MS-Methode mit ausreichender Leistung entwickelt. Das heißt, 20 µL

Plasma- und Leberhomogenate (Homogenate wurden aus Abschnitten hergestellt, die an drei Stellen der Leber entnommen wurden, und

gepoolte Proben wurden gegebenenfalls mit einer Blindmatrix verdünnt), Urin- und Stuhlhomogenate (ggf. mit einer Blindmatrix verdünnt),

Die Proben wurden mit Acetonitril verdünnt, das einen internen Standard (PEG-2000) enthielt.

Nach der Reinigung wurde das Gemisch zentrifugiert und der Überstand einer LC-MS/MS-Messung unterzogen.

3. Absorption

Berichtsnummer: PF-07302048_06_072424, Übersichtsblatt: 2.6.5.3

Um die Pharmakokinetik von ALC-0315 und ALC-0159 zu untersuchen, wurden männlichen Ratten in Luciferase-RNA eingekapselte LNPs verabreicht.

Eine Einzeldosis von 1 mg RNA/kg wurde Wistar Han-Ratten intravenös verabreicht, und der zeitliche Verlauf (vor der Verabreichung, 0,1, 0,25,

Plasma und Leber wurden 0,5, 1, 3, 6 und 24 Stunden sowie 2, 4, 8 und 14 Tage nach der Verabreichung spärlich analysiert.

Durch Probenahme gesammelt (3 Tiere/Zeitpunkt). ALC-0315 und ALC-0159 in Plasma und Leber

Die Konzentrationen wurden gemessen und die PK-Parameter berechnet (Tabelle 1). Die Konzentrationen von ALC-0315 und ALC-0159 im Blut waren

Es verteilte sich innerhalb von 24 Stunden nach der Verabreichung rasch in die Leber. Darüber hinaus war die Plasmakonzentration 24 Stunden nach der Verabreichung die höchste im Plasma.

Die Konzentration betrug weniger als 1 % der normalen Konzentration (Abbildung 1). Die scheinbare terminale Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2}$) betrug

Die Überlebenszeiten waren ähnlich, 6 bis 8 Tage für ALC-0315 und 2 bis 3 Tage für ALC-0159. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass die Leber

Es wurde vorgeschlagen, dass das Unternehmen eine der führenden Organisationen sein wird, die ALC-0315 und ALC-0159 vom Unternehmen übernehmen.

Ergebnisse der Untersuchung der Urin- und Stuhlkonzentrationen von ALC-0315 und ALC-0159, die in dieser Studie durchgeführt wurden

wird in Abschnitt M2.6.4.6 beschrieben .

Tabelle 1. In Luciferase- RNA eingekapselte LNPs wurden Wistar-Han- Ratten in einer Dosis von 1 mg RNA/kg intravenös verabreicht .

Pharmakokinetik von ALC-0315 und ALC-0159 bei Verabreichung

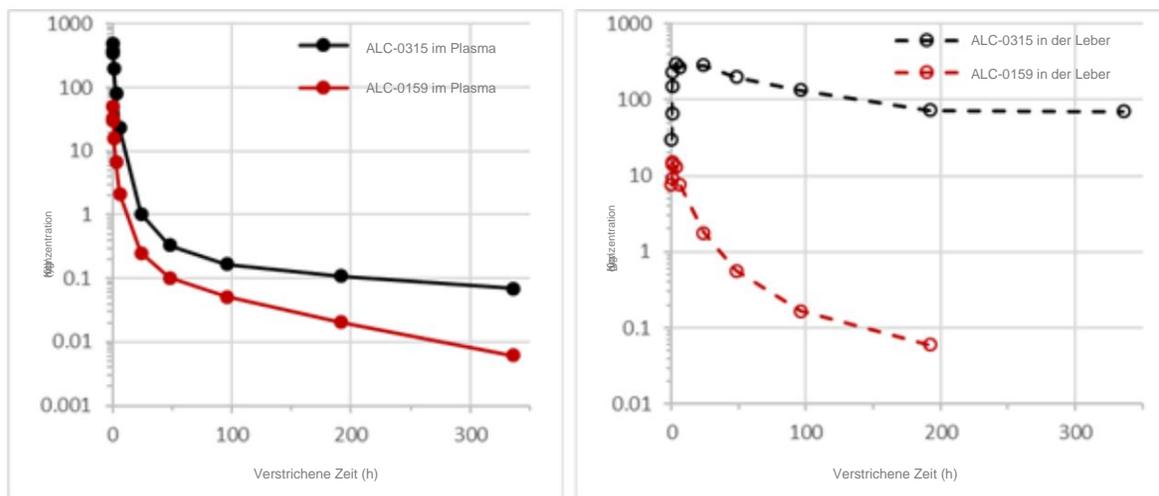
Analyt	Analyt-Dosierung (mg/kg)	Geschlecht/N	$t_{1/2}$ (h)	AUCinf ($\bar{y}g \cdot h/ml$)	AUClast ($\bar{y}g \cdot h/ml$)	Zur Leber Ausschüttungsquote (%) ^a
ALC-0315	15,3		139	1030	1020	60
ALC-0159	1,96		72,7	99,2	98,6	20

Männlich/3b Männlich/3b a. Berechnet als $[Spitzen\text{-Leberverteilungsvolumen } (\bar{y}g)]/[verabreichte\ Dosis\ (\bar{y}g)]$.

B. Drei Tiere pro Zeitpunkt. Spärliche Stichprobennahme.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4
Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

Abbildung 1. In Luciferase- RNA eingekapselte LNPs wurden **Wistar-Han-** Ratten in einer Dosis von **1 mg RNA/kg** intravenös verabreicht .
Plasma- und Leberkonzentrationen von verabreichtem **ALC-0315** und **ALC-0159**



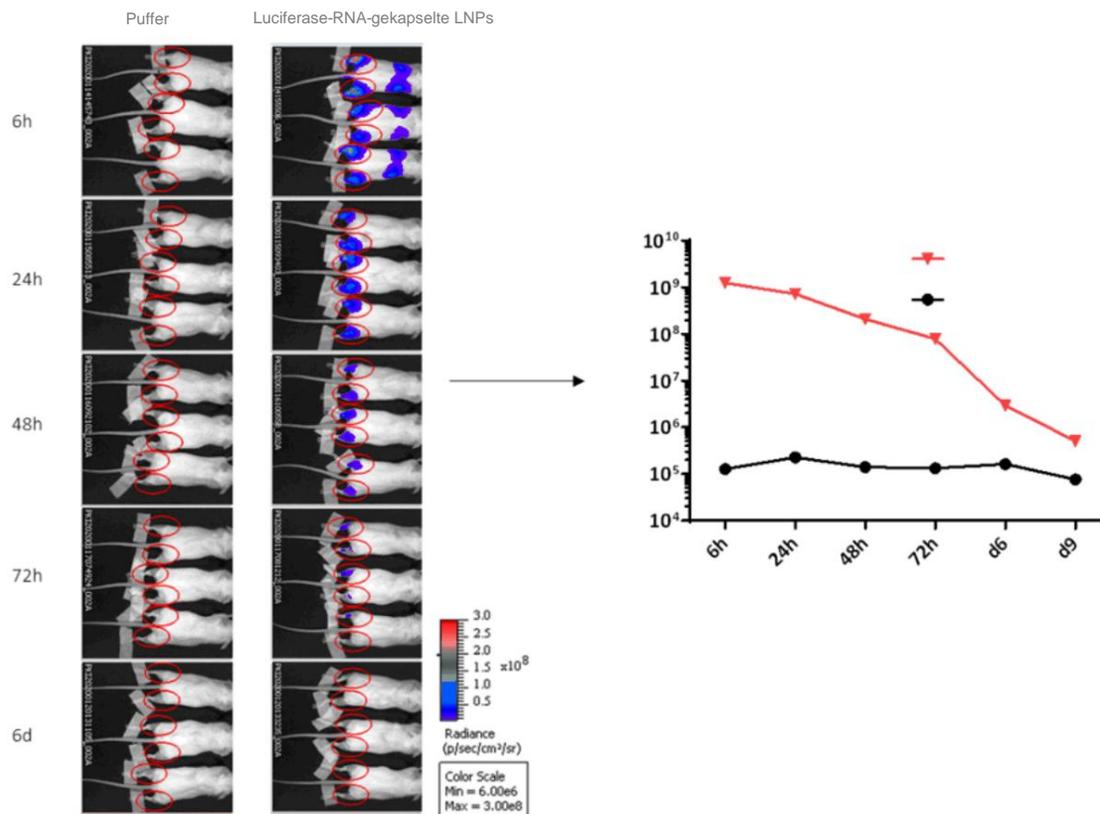
4. Verteilung

Berichtsnummer: R --0072, 185350, Übersichtstabelle: 2.6.5.5A, 2.6.5.5B

Drei weiblichen BALB/c-Mäusen wurden in Luciferase-RNA eingekapselte LNPs verabreicht und die Bioverteilung von BNT162b2 wurde mithilfe der Luciferase-Lumineszenz als Ersatzmarker untersucht. Konkret wurden in Luciferase-RNA eingekapselte LNPs in einer Dosis von jeweils 1 μ g RNA (insgesamt 2 μ g RNA) intramuskulär in die linken und rechten Hinterbeine von Mäusen verabreicht. Anschließend wurde das Lumineszenzsubstrat Luciferin 5 Minuten vor der Detektion der Luciferase-Lumineszenz intraperitoneal verabreicht. Unter Isofluran-Anästhesie wurde die In-vivo-Lumineszenz 6 und 24 Stunden sowie 2, 3, 6 und 9 Tage nach der Verabreichung mit einem Xenogen IVIS Spectrum gemessen, um den Verlauf der Luciferase-Proteinexpression im Laufe der Zeit bei derselben Person zu bewerten. Als Ergebnis wurde 6 Stunden nach der Injektion eine Luciferase-Expression an der Injektionsstelle beobachtet und verschwand am 9. Tag nach der Injektion. Die Expression in der Leber wurde 6 Stunden nach der Verabreichung beobachtet und verschwand innerhalb von 48 Stunden nach der Verabreichung. Die Verteilung in der Leber deutete vermutlich darauf hin, dass ein Teil des lokal verabreichten, in Luciferase-RNA eingekapselten LNP in das zirkulierende Blut gelangte und von der Leber aufgenommen wurde. Wie in Abschnitt M2.6.4.3 ausführlich beschrieben, wurde bei der intravenösen Verabreichung von in Luciferase-RNA eingekapseltem LNP an Ratten angenommen, dass die Leber das Hauptverteilungsorgan für ALC-0315 und ALC-0159 ist. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, in der die Medikamente Mäusen intramuskulär verabreicht wurden. Darüber hinaus wurden in Toxizitätsstudien mit wiederholter Gabe an Ratten keine toxischen Befunde beobachtet, die auf Leberschäden hindeuteten ([Abschnitt M2.6.6.3](#)).

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4
Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

Abbildung 2. In-vivo-Lumineszenz in BALB/c -Mäusen nach intramuskulärer Verabreichung von Luciferase -RNA - verkapselten LNPs



Männlichen und weiblichen Wistar-Han-Ratten wurden in Luciferase-RNA eingekapselte LNPs unter Verwendung von [3H]-Cholesterylhexadecylether ([3H]-CHE)-markierten LNPs in einer Dosis von 50 μ g RNA intramuskulär verabreicht. 15 Minuten und 1, 2, 4, 8, 24 und 48 Stunden nach der Verabreichung wurden Blut-, Plasma- und Gewebeprobe von drei Männern und drei Frauen entnommen und die Bioverteilung der LNPs in vivo durch Messung der Radioaktivitätskonzentration mittels Flüssigkeitsszintillationszählung ausgewertet. Sowohl bei Männern als auch bei Frauen war die Radioaktivitätskonzentration an allen Messpunkten an der Injektionsstelle am höchsten. Die Plasmaradioaktivitätskonzentration war 1 bis 4 Stunden nach der Verabreichung am höchsten. Die Radioaktivität verteilte sich hauptsächlich in Leber, Milz, Nebennieren und Eierstöcken und die Radioaktivitätskonzentration in diesen Geweben war 8 bis 48 Stunden nach der Verabreichung am höchsten. Die Gesamtwiederfindungsrate der Radioaktivität im Verhältnis zur verabreichten Dosis außerhalb der Injektionsstelle war in der Leber am höchsten (maximal 18 %) und im Vergleich zur Leber in der Milz (weniger als 1,0 %), den Nebennieren (weniger als 0,11 %) und den Eierstöcken (weniger als 0,095 %) deutlich niedriger. Die mittleren Radioaktivitätskonzentrationen und Gewebeverteilungsmuster waren bei Männern und Frauen im Allgemeinen ähnlich.

Die In-vivo-Expressionsverteilung des von BNT162b2 kodierten Antigens scheint von der LNP-Verteilung abzuhängen. Die Lipidzusammensetzung des in dieser Studie verwendeten, in Luciferase-RNA eingekapselten LNP war dieselbe wie die der vorgeschlagenen BNT162b2-Formulierung. Daher wird davon ausgegangen, dass die Ergebnisse dieser Studie Aufschluss über die Verteilung des in BNT162b2 eingekapselten LNP geben.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4
Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

5. Stoffwechsel

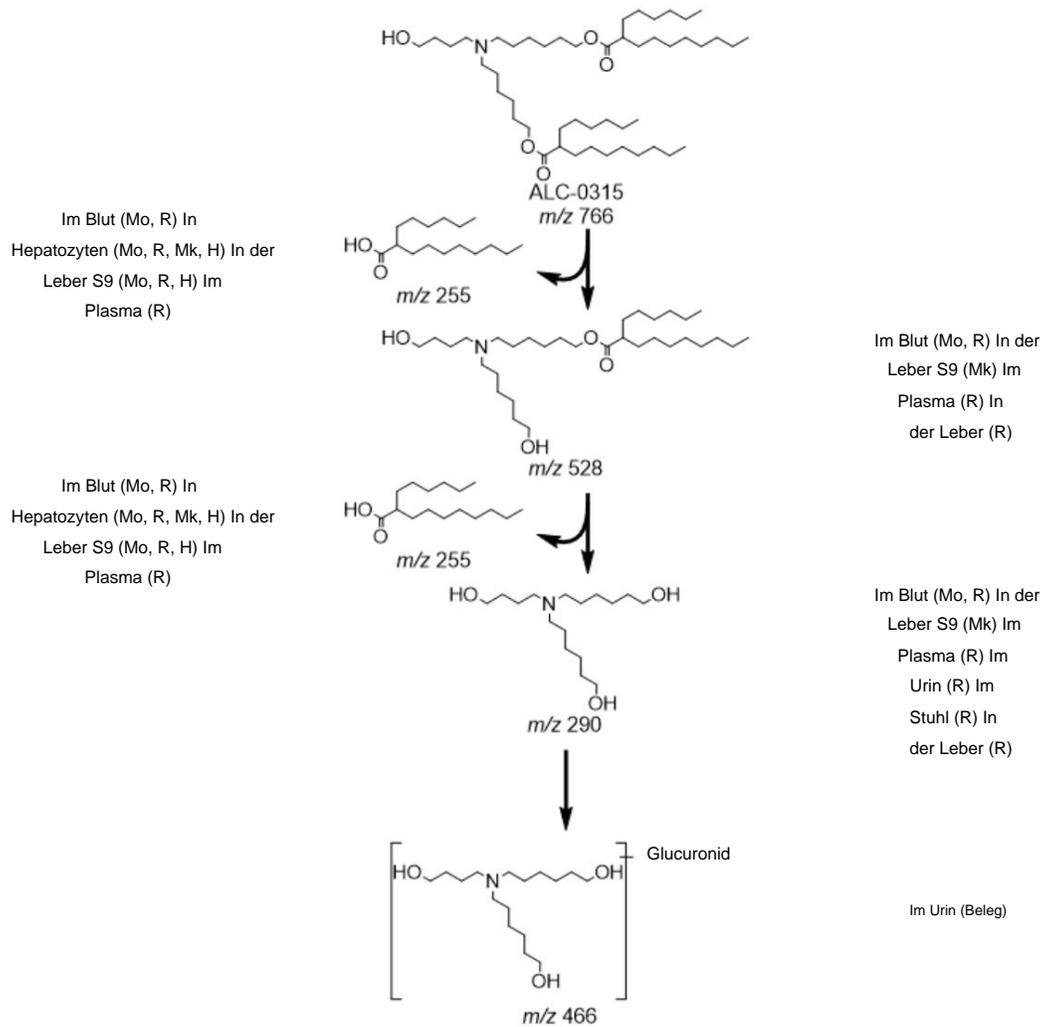
Berichtsnummer: 01049-008, 01049-009, 01049-010, 01049-020, 01049-021, 01049-022, [REDACTED]
PF-07302048_05 [REDACTED]_043725, Übersichtstabelle: 2.6.5.10A, 2.6.5.10B, 2.6.5.10C, 2.6.5.10D

Die metabolische Stabilität von ALC-0315 und ALC-0159 in vitro wurde mithilfe von Lebermikrosomen, Leber-S9-Fractionen und Hepatozyten von CD-1/ICR-Mäusen, Wistar-Han- oder Sprague-Dawley-Ratten, Cynomolgus-Affen und Menschen bewertet. ALC-0315 oder ALC-0159 wurden zu Lebermikrosomen oder Leber-S9-Fractionen (120 Minuten inkubiert) oder Hepatozyten (240 Minuten inkubiert) jeder Tierart hinzugefügt und der Prozentsatz des unveränderten Arzneimittels nach der Inkubation gemessen. Als Ergebnis waren ALC-0315 und ALC-0159 bei allen Tierarten und Testsystemen metabolisch stabil, wobei der endgültige Prozentsatz der unveränderten Form >82 % betrug.

Darüber hinaus wurden die Stoffwechselwege von ALC-0315 und ALC-0159 in vitro und in vivo untersucht. In diesen Studien wurde der In-vitro-Stoffwechsel anhand von Blut, Leber-S9-Fractionen und Hepatozyten von CD-1-Mäusen, Wistar-Han-Ratten, Cynomolgus-Affen und Menschen untersucht. Darüber hinaus wurde der In-vivo-Stoffwechsel anhand von Plasma-, Urin-, Kot- und Leberproben untersucht, die im Rahmen von PK-Studien an Ratten gesammelt wurden (Abschnitt M2.6.4.3). Die Studienergebnisse zeigten, dass sowohl ALC-0315 als auch ALC-0159 langsam metabolisiert wurden, und zwar durch Hydrolyse von Ester- bzw. Amidbindungen. Bei allen untersuchten Tierarten wurde ein Stoffwechsel durch Hydrolyse beobachtet, wie in den Abbildungen 3 und 4 dargestellt.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4

Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

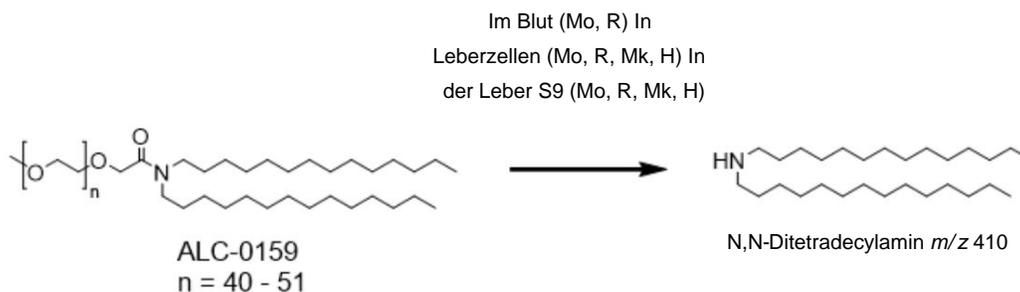
Abbildung 3. Geschätzte Stoffwechselwege von **ALC-0315** in verschiedenen Tierarten

H: Mensch, Mk: Affe, Mo: Maus, R: Ratte

ALC-0315 wird durch zwei aufeinanderfolgende Esterhydrolyseereignisse metabolisiert. Diese doppelte Hydrolyse erzeugt zuerst einen Monoester-Metaboliten (m/z 528) und dann einen doppelt esterierten Metaboliten (m/z 290). Dieser doppelt esterierte Metabolit wurde weiter zu einem Glucuronid-Konjugat (m/z 466) metabolisiert, das in einer PK-Studie an Ratten nur im Urin nachgewiesen wurde. Es wurde auch bestätigt, dass das saure Produkt beider Hydrolysereaktionen 6-Hexyldecansäure (m/z 255) war .

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4
Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

Abbildung 4. Geschätzte Stoffwechselwege von ALC-0159 in verschiedenen Tierarten



H: Mensch, Mk: Affe, Mo: Maus, R: Ratte

Der Hauptstoffwechselweg von ALC-0159 war die Hydrolyse der Amidbindung zur Bildung von N,N-Ditetradecylamin (*m/z* 410). Dieser Metabolit wurde im Blut von Mäusen und Ratten sowie in den Hepatozyten und Leber-S9-Fractionen von Mäusen, Ratten, Affen und Menschen nachgewiesen. In In-vivo-Proben wurden keine Metaboliten von ALC-0159 identifiziert.

6. Ausscheidung

PK-Studie mit Luciferase-RNA-verkapselten LNPs, die Ratten in einer Dosis von 1 mg RNA/kg intravenös verabreicht wurden

Die Konzentrationen von ALC-0315 und ALC-0159 im über einen bestimmten Zeitraum gesammelten Urin und Kot (Abschnitt M2.6.4.3) wurden gemessen.

Weder ALC-0315 noch ALC-0159 wurden unverändert im Urin nachgewiesen. Andererseits wurden unverändertes ALC-0315 und ALC-0159 im Stuhl nachgewiesen, was etwa 1 % bzw. 50 % der verabreichten Dosis entspricht. Darüber hinaus wurden, wie in Abbildung 3 gezeigt, Metaboliten von ALC-0315 im Urin nachgewiesen.

7. Pharmakokinetische Arzneimittelwechselwirkungen

Es wurden keine pharmakokinetischen Studien zu Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln mit diesem Impfstoff durchgeführt.

8. Andere pharmakokinetische Studien

Es wurden keine weiteren pharmakokinetischen Studien mit diesem Impfstoff durchgeführt.

9. Diskussion und Schlussfolgerung

In einer PK-Studie an Ratten sanken die Plasma- und Leberkonzentrationen von ALC-0315 innerhalb von 2 Wochen nach der Verabreichung auf das etwa 7.000-Fache bzw. 1/4 der Maximalkonzentration, und die Konzentrationen von ALC-0159 sanken auf das etwa 8.000-Fache bzw. 1/250 der Maximalkonzentration. Die Halbwertszeit war im Plasma und in der Leber ähnlich, 6–8 Tage für ALC-0315 und 2–3 Tage für ALC-0159. Der Plasma- $t_{1/2}$ -Wert soll die Verteilung jedes Lipids in Geweben als LNP und dann die Umverteilung ins Plasma während des Eliminationsprozesses darstellen.

Unverändertes ALC-0315 wurde weder im Urin noch im Kot nachgewiesen, aber Monoestermetaboliten, doppelt entesterte Metaboliten und 6-Hexyldecansäure wurden in Kot- und Plasmaproben nachgewiesen, die im Rahmen der PK-Studie an Ratten gesammelt wurden, und ein Glucuronidkonjugat des doppelt entesterten Metaboliten wurde im Urin nachgewiesen. Dieser Stoffwechselprozess könnte der primäre Eliminationsmechanismus von ALC-0315 sein, obwohl keine quantitativen Daten zur Überprüfung dieser Hypothese verfügbar sind. Andererseits wurden etwa 50 % der verabreichten Dosis ALC-0159 unverändert über den Stuhl ausgeschieden. In In-vitro-Stoffwechselstudien wurde es langsam durch Hydrolyse der Amidbindung metabolisiert.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4

Zusammenfassung der pharmakokinetischen Studie

Da angenommen wird, dass die In-vivo-Expressionsverteilung des von BNT162b2 kodierten Antigens von der Verteilung der LNPs abhängt, verabreichten wir BALB/c-Mäusen intramuskulär in Luciferase-RNA eingekapselte LNPs und untersuchten die In-vivo-Verteilung eines alternativen Reporterproteins. Als Ergebnis wurde eine Luciferase-Expression an der Injektionsstelle beobachtet, und obwohl das Expressionsniveau niedriger war, wurde sie auch in der Leber beobachtet. Die Luciferase-Expression an der Injektionsstelle wurde 6 Stunden nach der Injektion beobachtet und verschwand am 9. Tag nach der Injektion. Die Expression in der Leber wurde 6 Stunden nach der Verabreichung beobachtet und verschwand innerhalb von 48 Stunden nach der Verabreichung. Die Verteilung in der Leber deutete vermutlich darauf hin, dass das lokal verabreichte, in Luciferase-RNA eingekapselte LNP in das zirkulierende Blut gelangte und von der Leber aufgenommen wurde. Darüber hinaus war die Radioaktivitätskonzentration an der Injektionsstelle am höchsten, wenn Ratten intramuskulär radioaktiv markiertes, in Luciferase-RNA eingekapseltes LNP verabreicht wurde. Außerhalb der Injektionsstelle war die Radioaktivität in der Leber am höchsten, gefolgt von der Milz, den Nebennieren und den Eierstöcken. Allerdings war die Gesamtwiederfindungsrate der Radioaktivität in diesen Geweben im Verhältnis zur verabreichten Dosis deutlich niedriger als in der Leber. Dieses Ergebnis stimmte mit der Beobachtung der Luciferase-Expression in der Leber in der Bioverteilungsstudie an Mäusen überein. Darüber hinaus wurden in einer Toxizitätsstudie mit wiederholter Gabe an Ratten keine toxischen Befunde beobachtet, die auf eine Leberschädigung hindeuteten (Abschnitt M2.6.6.3).

Die obige nichtklinische pharmakokinetische Bewertung zeigte, dass LNPs, die ins zirkulierende Blut gelangen, in die Leber verteilt werden. Es wurde auch vermutet, dass der Stoffwechsel und die fäkale Ausscheidung an der Elimination von ALC-0315 bzw. ALC-0159 beteiligt sind.

10. Diagramme

Abbildungen und Tabellen finden Sie im Text und in der Übersichtstabelle.

Verweise

- 1 Weltgesundheitsorganisation. Anhang 1. Leitlinien zur nichtklinischen Bewertung von Impfstoffen. In: WHO Technical Report Series Nr. 927, Genf, Schweiz. Weltgesundheitsorganisation; 2005:31-63.
2. Richtlinien für nichtklinische Studien mit Impfstoffen zur Prävention von Infektionskrankheiten (PFSB/ELD-Benachrichtigung Nr. 0527 Nr. 1, 27. Mai 2010)

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.1. Überblick über die Pharmakokinetik**Testartikel: BNT162b2**

Art der Studie	Testsystem	Prüfling	Methode der Verwaltung	Prüfeinrichtung	Berichtsnummer
Pharmakokinetik einer Einzeldosis					
Einzeldosis Pharmakokinetik und Ausscheidung von ALC-0159 und ALC-0315 im Urin und Stuhl	Ratte (Wistar Han)	modRNA, die Luciferase kodiert formuliert in LNP vergleichbar mit BNT162b2	IV-Bolus	Pfizer Inca	PF-07302048_06 [REDACTED]_072424
Verteilung					
In-Vivo-Verteilung	Mäuse BALB/c	modRNA, die Luciferase kodiert formuliert in LNP vergleichbar mit BNT162b2	IM-Injektion	[REDACTED] ^B	R-[REDACTED]-0072
In-Vivo-Verteilung	Ratte (Wistar Han)	modRNA, die Luciferase kodiert, formuliert in LNP, vergleichbar mit BNT162b2 mit Spuren von [3H]-CHE als nicht- diffusionsfähiges Label	IM-Injektion	[REDACTED] ^C	185350
Stoffwechsel					
In-vitro- und In-vivo-Metabolismus					
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0315 in der Leber Mikrosomen	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley und Wistar Männchen, Affe (Cynomolgus) und menschliche Lebermikrosomen	ALC-0315	In vitro	[REDACTED] ^b	01049-008 [REDACTED]
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0315 in der Leber S9	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley), Affen (Cynomolgus) und menschliche S9- Leberfraktionen	ALC-0315	In vitro	[REDACTED] ^b	01049-009 [REDACTED]

PFIZER VERTRAULICH

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.1. Überblick über die Pharmakokinetik

Testartikel: BNT162b2

Art der Studie	Testsystem	Prüfling	Methode der Verwaltung	Prüfeinrichtung	Berichtsnummer
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0315 in Hepatozyten	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley und Wistar Männchen, Affe (Cynomolgus) und menschliche Hepatozyten	ALC-0315	In vitro	[REDACTED]	01049-010 [REDACTED]
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0159 in der Leber Mikrosomen	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley und Wistar Männchen, Affe (Cynomolgus) und menschliche Lebermikrosomen	ALC-0159	In vitro	[REDACTED]	01049-020 [REDACTED]
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0159 in der Leber S9	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley), Affen (Cynomolgus) und menschliche S9-Fractionen	ALC-0159	In vitro	[REDACTED]	01049-021 [REDACTED]
In-vitro-metabolische Stabilität von ALC-0159 in Hepatozyten	Maus (CD-1/ICR), Ratte (Sprague Dawley und Wistar Männchen, Affe (Cynomolgus) und menschliche Hepatozyten	ALC-0159	In vitro	[REDACTED]	01049-022 [REDACTED]
Biotransformation von ALC-0159 und ALC-0315 In Vitro und In Vivo bei Ratten	In vitro: CD-1 Maus, Wistar Han-Ratte, Cynomolgus Affe und Mensch Blut, Leber-S9-Fractionen und Hepatozyten In vivo: schlechter Wistar Han Ratten	ALC-0315 und ALC-0159	In vitro oder IV (in vivo bei Ratten)	Pfizer Ince	PF-07302048_05 [REDACTED]_043725

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.1. Überblick über die Pharmakokinetik

Testartikel: BNT162b2

Art der Studie	Testsystem	Prüfling	Methode der Verwaltung	Prüfeinrichtung	Berichtsnummer
ALC-0159 = 2-[(Polyethylenglykol)-2000]-N,N-Ditetradecylacetamid, ein proprietäres Polyethylenglykol-Lipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; ALC-0315 = (4-Hydroxybutyl)azandiylbis(hexan-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoat), ein proprietäres Aminolipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; IM = Intramuskulär; IV = Intravenös; LNP = Lipid-Nanopartikel; S9 = Überstandsfraktion, die durch Zentrifugieren bei 9000 g aus Leberhomogenat gewonnen wurde.					
Zu, La Jolla, Kalifornien.					
B. [REDACTED], Deutschland.					
C. [REDACTED], China.					
de Groton, Connecticut.					

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.3. PHARMAKOKINETIK: Pharmakokinetik nach einer Einzeldosis

Testartikel: modRNA, die Luciferase in LNP kodiert
Berichtsnummer: PF-07302048_0 [REDACTED] 2424

Art (Stamm)	Ratte (Wistar Han)
Geschlecht/Anzahl der Tiere	Männchen/ 3 Tiere pro Zeitpunkt
Fütterungsbedingung	Gefastet
Art der Anwendung	IV
ModRNA-Dosen (mg/kg)	
Dosis ALC-0159 (mg/kg)	1 1,96
Dosis ALC-0315 (mg/kg)	15.3
Beispielmatrix	Plasma, Leber, Urin und Kot
Zeitpunkte der Probenentnahme (Stunden nach der Verabreichung):	Vordosis: 0,1, 0,25, 0,5, 1, 3, 6, 24, 48, 96, 192, 336
Analyt	ALC-0315 ALC-0159
PK-Parameter:	Bedeutung Mittelwert
AUC _{inf} (µg•h/ml) ^c	1030 99,2
AUC _{last} (µg•h/ml)	1020 98,6
Anfängliche t _{1/2} (h) ^d	1,62 1,74
Terminale Elimination t _{1/2} (h) ^e	139 72,7
Geschätzter Anteil der in die Leber verteilten Dosis (%) ^f	59,5 20,3
Dosis im Urin (%)	NCg NCg
Dosis im Stuhl (%) ^h	1,05 47,2

ALC-0159 = 2-[(Polyethylenglykol)-2000]-N,N-Ditetradecylacetamid), ein proprietäres Polyethylenglykol-Lipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; ALC-0315 = (4-Hydroxybutyl)azandiyl)bis(hexan-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoat), ein proprietäres Aminolipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; AUC_{inf} = Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve des Arzneimittels von 0 bis unendlich; AUC_{last} = Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve des Arzneimittels Arzneimittelkonzentrations-Zeit-Kurve von 0 bis zum letzten quantifizierbaren Zeitpunkt; BLQ = Unterhalb der Bestimmungsgrenze; LNP = Lipidnanopartikel; modRNA = Nukleosidmodifizierte Messenger-RNA; PK = Pharmakokinetik; t_{1/2} = Halbwertszeit.

- Nicht-serielle Probenahme, insgesamt 36 Tiere.
- Aufgrund der nicht seriellen Probenahme werden nur die mittleren PK-Parameter angegeben.
- Berechnet mithilfe der terminalen loglinearen Phase (bestimmt mithilfe von 48, 96, 192 und 336 Stunden für die Regressionsberechnung).
- $\ln(2)/$ Konstante der initialen Eliminationsrate (ermittelt durch 1, 3 und 6 Stunden für die Regressionsberechnung).
- $\ln(2)/$ Konstante der terminalen Eliminationsrate (ermittelt durch 48, 96, 192 und 336 Stunden für die Regressionsberechnung).
- Wie folgt berechnet: höchste mittlere Menge in der Leber (µg)/durchschnittliche Gesamtdosis (µg) von ALC-0315 oder ALC-0159.
- Aufgrund von BLQ-Daten nicht berechnet.
- Stuhlausscheidung, berechnet als: (durchschnittliche µg Analyt im Stuhl/durchschnittliche µg verabreichtes Analyt) × 100

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.5A. PHARMAKOKINETIK: ORGANVERTEILUNG

Testartikel: modRNA, die Luciferase in LNP kodiert
Berichtsnummer: F-0072

Art (Stamm):	Mäuse (BALB/c)
Geschlecht/Anzahl der Tiere:	Weiblich/3 pro Gruppe
Fütterungsbedingung:	Nach Belieben gefüttert
Träger/Formulierung:	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
Art der Verabreichung:	Intramuskuläre Injektion
Dosis (mg/kg):	1 µg/Hinterbein im Gastrocnemius-Muskel (insgesamt 2 µg)
Anzahl der Dosen:	1
Erkennung:	Biolumineszenzmessung
Probenahmezeit (Stunde):	6, 24, 48, 72 Stunden; 6 und 9 Tage nach der Injektion

Zeitpunkt	Gesamtes mittleres Biolumineszenzsignal (Photonen/Sekunde)		Mittleres Biolumineszenzsignal in der Leber (Photonen/Sekunde)
	Puffersteuerung	modRNALuciferase in LNP	modRNALuciferase in LNP
6 Stunden 24	1,28×10 ⁵	1,26×10 ⁹	4,94 × 10 ⁷
Stunden 48	2,28×10 ⁵	7,31×10 ⁸	2,4 × 10 ⁶
Stunden 72	1,40×10 ⁵	2,10×10 ⁸	Unterhalb der Erkennung a
Stunden 5 6	1,33×10 ⁵	7,87×10 ⁷	Unterhalb der Erkennung a
Tage 1,62×10		2,92×10 ⁶	Unterhalb der Erkennung a
9 Tage	7,66×10 ⁴	5,09×10 ⁵	Unterhalb der Erkennung a

LNP = Lipid-Nanopartikel; modRNA = Nukleosid-modifizierte Messenger-RNA.

a. Auf oder unter dem Hintergrundniveau der Pufferkontrolle.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.5B. PHARMAKOKINETIK: ORGANVERTEILUNG (FORTSETZUNG)

Testartikel: [3H]-markierte LNP-mRNA-Formulierung mit ALC-0315 und ALC-0159

Berichtsnummer: 185350

Art (Stamm):	Ratte (Wistar Han)
Geschlecht/Anzahl der Tiere:	Männlich und weiblich/3 Tiere/Geschlecht/Zeitpunkt (insgesamt 21 Tiere/Geschlecht für die 50 µg-Dosis)
Fütterungsbedingung:	Nach Belieben gefüttert
Art der Verabreichung:	Intramuskuläre Injektion
Dosis:	50 µg [3H]-08-A01-C0 (Chargenr. NC-0552-1)
Anzahl der Dosen:	1
Erkennung:	Quantifizierung der Radioaktivität mittels Flüssigszintillationszählung
Probenahmezeit (Stunden):	0,25, 1, 2, 4, 8, 24 und 48 Stunden nach der Injektion

Probe	Mittlere Gesamtlipidkonzentration (µg Lipidäquivalent/g (oder ml) (Männer und Frauen zusammen))							% der verabreichten Dosis (Männer und Frauen zusammen)						
	0,25 h	1 Stunde	2 Stunden	4 Stunden	8 Stunden	24 h	48 h	0,25 h	1 Stunde	2 Stunden	4 Stunden	8 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
Fettgewebe	0,057	0,100	0,126	0,128	0,093	0,084	0,181	--	--	--	--	--	--	--
Nebennieren	0,271	1,48	2,72	2,89	6,80	13,8	18,2	0,001	0,007	0,010	0,015	0,035	0,066	0,106
Blase	0,041	0,130	0,146	0,167	0,148	0,247	0,365	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002
Knochen (Femur)	0,091	0,195	0,266	0,276	0,340	0,342	0,687	--	--	--	--	--	--	--
Knochenmark	0,479	0,960	1,24	1,24	1,84	2,49	3,77	--	--	--	--	--	--	--
(Oberschenkelknochen)														
Gehirn	0,045	0,100	0,138	0,115	0,073	0,069	0,068	0,007	0,013	0,020	0,016	0,011	0,010	0,009
Augen	0,010	0,035	0,052	0,067	0,059	0,091	0,112	0,000	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,003
Herz	0,282	1,03	1,40	0,987	0,546			0,018	0,056	0,084	0,060	0,042	0,027	0,030
Injektionsstelle	128	394	311	338	213	195	165	19,9	52,6	31,6	28,4	21,9	29,1	24,6
Nieren	0,391	1,16	2,05	0,924	0,590	0,426	0,425	0,050	0,124	0,211	0,109	0,075	0,054	0,057
Dickdarm 0,013 Leber 0,737		0,048	0,093	0,287	0,649	1,10	1,34	0,008	0,025	0,065	0,192	0,405	0,692	0,762
		4,63	11,0	16,5	26,5	19,2	24,3	0,602	2,87	7,33	11,9	18,1	15,4	16,2
Lunge	0,492	1,21	1,83	1,50	1,15	1,04	1,09	0,052	0,101	0,178	0,169	0,122	0,101	0,101

PFIZER VERTRAULICH

Seite 6

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

**2.6.5.5B. PHARMAKOKINETIK: ORGANVERTEILUNG
(FORTSETZUNG)**
**Testartikel: [3H]-markierte LNP-mRNA-Formulierung mit
ALC-0315 und ALC-0159**
Berichtsnummer: 185350

Probe	Gesamtlipidkonzentration (μg Lipidäquivalent/g [oder ml]) (Männer und Frauen zusammen)							% der verabreichten Dosis (Männer und Frauen zusammen)						
	0,25 h	1 Stunde	2 Stunden 4 Stunden	8 Stunden	24 h	48 h	0,25 h	1 Stunde	2 Stunden	4 Stunden	8 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	
Lymphknoten (Unterkiefer)	0,064	0,189	0,290	0,408	0,534	0,554	0,727	--	--	--	--	--	--	--
Lymphknoten (mesenterial)	0,050	0,146	0,530	0,489	0,689	0,985	1,37	--	--	--	--	--	--	--
Muskel	0,021	0,061	0,084	0,103	0,096	0,095	0,192	--	--	--	--	--	--	--
Eierstöcke (weiblich)	0,104	1,34	1,64	2,34	3,09	5,24	12,3	0,001	0,009	0,008	0,016	0,025	0,037	0,095
Pankreas	0,081	0,207	0,414	0,380	0,294	0,358	0,599	0,003	0,007	0,014	0,015	0,015	0,011	0,019
Hypophyse 0,339 Prostata	0,645	0,868	0,854	0,405	0,478	0,694		0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001
0,061 (Männer)	0,091	0,128	0,157	0,150	0,183	0,170		0,001	0,001	0,002	0,003	0,003	0,004	0,003
	0,084	0,193	0,255	0,220	0,135	0,170	0,264	0,003	0,007	0,008	0,008	0,005	0,006	0,009
Speicheldrüsen														
Haut 0,013 Dünndarm	0,208	0,159	0,145	0,119	0,157	0,253		--	--	--	--	--	--	--
0,030 Rückenmark Milz Magen	0,221	0,476	0,879	1,28	1,30	1,47		0,024	0,130	0,319	0,543	0,776	0,906	0,835
Hoden	0,043	0,097	0,169	0,250	0,106	0,085	0,112	0,001	0,002	0,002	0,003	0,001	0,001	0,001
(Männer)	0,334	2,47	7,73	10,3	22,1	20,1	23,4	0,013	0,093	0,325	0,385	0,982	0,821	1,03
	0,017	0,065	0,115	0,144	0,268	0,152	0,215	0,146	0,304	0,006	0,019	0,034	0,030	0,040
	0,031	0,042	0,079	0,129	0,320			0,007	0,010	0,017	0,030	0,034	0,074	0,074
Thymusdrüse	0,088	0,243	0,340	0,335	0,196	0,207	0,331	0,004	0,007	0,010	0,012	0,008	0,007	0,008
Schilddrüse	0,155	0,536	0,842	0,851	0,544	0,578	1,00	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	0,043	0,203	0,305	0,140	0,287	0,289	0,456	0,002	0,011	0,015	0,008	0,016	0,018	0,022
Gebärmutter (Frauen)														
Vollblut	1,97	4,37	5,40	3,05	1,31	0,909	0,420	--	--	--	--	--	--	--
Plasma	3,97	8,13	8,90	6,50	2,36	1,78	0,805	--	--	--	--	--	--	--
Blut:Plasma-Verhältnis	0,815	0,515	0,550	0,510	0,555	0,530	0,540	--	--	--	--	--	--	--

PFIZER VERTRAULICH

Seite 7

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

**2.6.5.5B. PHARMAKOKINETIK: ORGANVERTEILUNG
(FORTSETZUNG)****Testartikel: [3H]-markierte LNP-mRNA-Formulierung mit
ALC-0315 und ALC-0159
Berichtsnummer: 185350**

-- = Nicht zutreffend, teilweise Gewebe entnommen; [3H]-08-A01-C0 = Eine wässrige Dispersion von LNPs, einschließlich ALC-0315, ALC-0159, Distearoylphosphatidylcholin, Cholesterin, mRNA, die Luciferase kodiert, und Spuren von radioaktiv markiertem [Cholesteryl-1,2-3H(N)]-Cholesteryl Hexadecyl Ether, einem nicht austauschbaren, nicht metabolisierbaren Lipidmarker zur Überwachung der Disposition der LNPs; ALC-0159 = 2-[(Polyethylenglykol)-2000]-N,N--Ditetradecylacetamid, ein proprietäres Polyethylenglykol-Lipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; ALC-0315 = (4--Hydroxybutyl)azanediyl)bis(hexan-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoat), ein proprietäres Aminolipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten LNP-Formulierung enthalten ist; LNP = Lipid-Nanopartikel; mRNA = Messenger-RNA.

a. Die mittleren Blutplasmawerte von Männern und Frauen wurden zunächst getrennt berechnet und dieser Wert stellt den Mittelwert der beiden Werte dar.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.9. Pharmakokinetik: Stoffwechsel in vivo, RATTE

Testartikel: modRNA, die Luciferase in LNP kodiert
Berichtsnummer: PF-07302048_0[REDACTED]725

Art (Stamm): Ratte (Wistar Han)
Geschlecht/ Anzahl der Tiere Männlich/ 36 Tiere insgesamt für Plasma und Leber, 3 Tiere für Urin und Kot
Art der Verabreichung: Intravenös
Dosis (mg/kg): 1
Testsystem: Plasma, Urin, Kot, Leber
Analysemethode: Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie

Biotransformation	m/z	Metaboliten von ALC-0315 nachgewiesen			
		Plasma	Urin	Kot	Leber
N-Dealkylierung, Oxidation N-	102,0561a	ND	ND	ND	ND
Dealkylierung, Oxidation N-	104,0706b	ND	ND	ND	ND
Dealkylierung, Oxidation N-	130,0874a	ND	ND	ND	ND
Dealkylierung, Oxidation N-	132,1019b	ND	ND	ND	ND
Dealkylierung, Hydrolyse, Oxidation	145,0506a	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Säure)	255,2330a	+	ND	ND	ND
Hydrolyse, Hydroxylierung Bis-	271,2279a	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Amin)	290,2690b	+	+	+	+
Hydrolyse, Glucuronidierung Bis-	431,2650a	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung Bis-	464,2865a	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung Hydrolyse (Amin)	466,3011b	ND	+	ND	ND
	528,4986b	+	ND	ND	+
Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung, Oxidation zu Säure,	704,5307b	ND	ND	ND	ND
	778,6930a b	ND	ND	ND	ND
Oxidation zu Säure,	780,7076	ND	ND	ND	ND
Hydroxylierung,	782,7232b	ND	ND	ND	ND
Sulfatierung,	844,6706a	ND	ND	ND	ND
Sulfatierung,	846,6851b	ND	ND	ND	ND
Glucuronidierung,	940,7458a b	ND	ND	ND	ND
Glucuronidierung.	942,7604	ND	ND	ND	ND

Hinweis: Sowohl theoretische als auch beobachtete Metaboliten sind enthalten.

m/z = Masse-Ladungs-Verhältnis; ND = Nicht nachgewiesen; + = Nebenmetabolit, ermittelt durch Ultraviolett-Detektion.

a. Negativionenmodus.

b. Positiver Ionenmodus.

PFIZER VERTRAULICH

Seite 9

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.10A. PHARMAKOKINETIK: STOFFWECHSEL IN VITRO

Testartikel: ALC-0315

Berichtsnummern: 01049-008

01049-009

01049-010

Inkubationszeit (min)	Verbleibender Prozentsatz an ALC-0315																	
	Lebermikrosomen					Leber-S9-Fraktion				Hepatozyten								
	Maus	Ratte	Ratte	Affe	Menschliche	Maus	Ratte (SD)	Affe	Menschliche	Maus	Ratte	Ratte	Affe	Menschlich				
	(CD-1/ICR)	(SD)	(WH)	(Cyno)		(CD-1/ICR)		(Cyno)		(CD-1/ICR)	(SD)	(WH)	(Cyno)					
0	100,00	100,00	100,00	98,77	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00				
15	94,39	96,34	97,78	96,26	97,32	97,96	100,24	97,69	98,85	99,57	95,99							
30	100,49	99,73	98,54	97,78	98,66	96,18	99,76	97,22	99,62	96,96	97,32	101,15	97,75	102,70	100,77	96,36	100,72	
60	94,15	96,54	95,99	93,66		100,00	101,45	98,61	99,62	99,13	94,98	98,50	102,32	101,92	99,25	97,82	101,44	
						97,96	100,48	98,15	98,85	98,70	98,33	103,09	98,85	101,15	98,88	100,0	100,36	
						97,71	98,31	96,76	98,46	99,57	99,33	103,47	97,38	99,61		96,36	100,72	
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	99,62	101,12	100,00	>240	>240	95,64	98,92
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	>240				93,82	99,64	
90	120	180	240	t _{1/2} (min)	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	

-- = Daten nicht verfügbar; ALC-0315 = (4-Hydroxybutyl)azandiyli)bis(hexan-6,1-diyli)bis(2-hexyldecanoat), ein proprietäres Aminolipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten Lipid-Nanopartikel-Formulierung enthalten ist; Cyno = Cynomolgus; NADPH = Reduzierte Form von Nicotinamidadeninindinukleotidphosphat; NC = nicht berechnet; SD = Sprague Dawley; t_{1/2} = Halbwertszeit; WH = Wistar-Han; UDPGA = Uridindiphosphat-Glucuronsäure-Trinatriumsalz.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.10B. PHARMAKOKINETIK: STOFFWECHSEL IN VITRO (FORTSETZUNG)

Testartikel: ALC-0159
Berichtsnummern: 01049-020
01049-021
01049-022

Art der Studie:		Stabilität von ALC-0159 in vitro					Hepatozyten										
Studiensystem:		Lebermikrosomen + NADPH					S9-Fraktion + NADPH, UDPGA und Alamathicin										
ALC-0159		1 µM					1 µM										
Konzentration:		1 µM					1 µM										
Dauer von		120 Minuten					120 Minuten										
Inkubation (min):		120 Minuten					240 Minuten										
Analysemethode:		Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie															
Inkubationszeit (min)	Prozent ALC-0159 verbleibend																
	Lebermikrosomen					Leber-S9-Fraktion					Hepatozyten						
	Maus	Ratte	Ratte	Affe	Menschliche	Maus	Ratte (SD)	Affe	Menschliche	Maus	Ratte	Ratte	Affe	Menschlich			
	(CD-1/ICR)	(SD)	(WH)	(Cyno)		(CD-1/ICR)	(Cyno)			(CD-1/ICR)	(SD)	(WH)	(Cyno)				
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00			
15	82,27	101,24	112,11	93,78	100,83	99,59	98,93	84,38	91,30	106,73	--	--	--	--			
30	86,40	102,69	98,34	105,38	85,12	92,28	91,10	90,87	97,96	107,60	100,85	93,37	113,04	90,23	94,92	91,81	106,34
60	85,54	95,44	100,90	97,10	86,36	95,53	102,85	97,97	105,56	104,97	105,07	92,93	94,28	90,25	112,80	94,59	101,58
90	85,41	108,97			94,63	97,97	90,75	93,51	108,33	109,36	87,08	89,47	104,11	97,51	94,92	93,96	92,67
120	95,87				93,39	93,09	106,76	92,70	105,74	119,59	102,90	89,81	102,75	94,93	98,79	92,93	96,04
180	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	93,66
240	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	102,57
t½ (min)	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>240	>240	>240	>240	>240	>240	>240

-- = Daten nicht verfügbar; ALC-0159 = 2-[(Polyethylenglykol)-2000]-N,N-Ditetradecylacetamid, ein proprietäres Polyethylenglykol-Lipid, das als Hilfsstoff in der in BNT162b2 verwendeten Lipid-Nanopartikel-Formulierung enthalten ist; Cyno = Cynomolgus; NADPH = Reduzierte Form von Nicotinamadeninindinukleotidphosphat; NC = nicht berechnet; SD = Sprague Dawley; WH = Wistar-Han; UDPGA = Uridindiphosphat-Glucuronsäure-Trinatriumsalz.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.10C. PHARMAKOKINETIK: STOFFWECHSEL IN VITRO
(FORTSETZUNG)

Testartikel: ALC-0315

Berichtsnummer: PF-07302048_05_04372

Studienart	Metabolismus von ALC-0315 in vitro													
	Blut				Hepatozyten				Leber-S9-Fraktion					
Studiensystem	10 µM				10 µM				10 µM					
ALC-0315-Konzentration	24 h				4 h				24 Stunden					
Dauer der Inkubation	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie													
Analysemethode:	Biotransformation	m/z	Blut				Hepatozyten				Leber-S9-Fraktion			
			Maus	Ratte	Affe	Mensch	Maus	Ratte	Affe	Mensch	Maus	Ratte	Affe	Mensch
	N-Dealkylierung, Oxidation	102,0561a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	N-Dealkylierung, Oxidation	104,0706b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	N-Dealkylierung, Oxidation	130,0874a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	N-Dealkylierung, Oxidation	132,1019b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	N-Dealkylierung, Hydrolyse, Oxidation	145,0506a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Hydrolyse (Säure)	255,2330a	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+	+	ND	+
	Hydrolyse, Hydroxylierung	271,2279a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Bis-Hydrolyse (Amin)	290,2690b	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
	Hydrolyse, Glucuronidierung	431,2650a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Bis-Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung	464,2865a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Bis-Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung	466,3011b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Hydrolyse (Amin)	528,4986b	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
	Hydrolyse (Amin), Glucuronidierung	704,5307 b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Oxidation zu Säure	778,6930a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Oxidation zu Säure	780,7076b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Hydroxylierung	782,7232b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Sulfatierung 844,6706a 846,6851b Sulfatierung Glucuronidierung		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	942,7604b	940,7458a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Glucuronidierung Hinweis: Sowohl theoretische als auch beobachtete sind enthalten.	Metaboliten	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

m/z = Masse-Ladungs-Verhältnis; ND = Nicht erkannt; + = Metabolit vorhanden.

a. Negativionenmodus.

b. Positiver Ionenmodus.

SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048)

2.6.5 Übersichtstabellen zu pharmakokinetischen Studien

2.6.5.10D. PHARMAKOKINETIK: STOFFWECHSEL IN VITRO
(FORTSETZUNG)

Testartikel: ALC-0159

Berichtsnummer: PF-07302048_05_04372

Studienart	Metabolismus von ALC-0159 in vitro												
	Blut				Hepatozyten				Leber-S9-Fraktion				
Studiensystem													
ALC-0159-Konzentration	10 µM				10 µM				10 µM				
Dauer der Inkubation	24 h				4 h				24 Stunden				
Analysemethode:	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie												
Biotransformation	m/z	Blut				Hepatozyten				Leber-S9-Fraktion			
		Maus	Ratte	Affe	Mensch	Maus	Ratte	Affe	Mensch	Maus	Ratte	Affe	Mensch
O-Demethylierung, O-Dealkylierung	107.0703b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
O-Demethylierung, O-Dealkylierung	151.0965 b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
O-Demethylierung, O-Dealkylierung	195.1227 b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse, N-Dealkylierung	214.2529b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
N-Dealkylierung, Oxidation	227.2017a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Amin)	410.4720b		+		+	ND	ND			+	+	+	+
N,N-Didealkylierung	531.5849b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
N-Dealkylierung	580.6396b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
O-Demethylierung, Oxidation	629.6853b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hydroxylierung	633.6931 b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
γ-Hydroxylierung, Oxidation	637.1880b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hydrolyse (Säure)	708.7721b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Hinweis: Sowohl theoretische als auch beobachtete Metaboliten sind enthalten.

m/z = Masse-Ladungs-Verhältnis; ND = Nicht erkannt; + = Metabolit vorhanden.

a. Negativionenmodus.

b. Positiver Ionenmodus.