

ソバルデイ[®]錠 400 mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

1.	まとめ	9
2.	分析法	15
2.1.	血漿中ソホスブビル及び代謝物濃度定量法	15
2.2.	標識体分析法	16
2.2.1.	標識化合物	16
2.2.2.	分析法	17
2.3.	血漿及び尿中での異性体変換	17
3.	吸収	18
3.1.	<i>In vitro</i> 試験	18
3.1.1.	Caco-2 単層膜細胞での膜透過性	18
3.1.2.	人工胃液及び腸液中安定性	19
3.2.	<i>In vivo</i> 試験	19
3.2.1.	単回投与	19
3.2.2.	反復投与	23
4.	分布	26
4.1.	組織内分布試験	26
4.1.1.	SD ラット及び Long-Evans ラットでの組織内分布	26
4.2.	血漿タンパク結合率	29
4.3.	胎盤通過及び乳汁移行	30
5.	代謝（動物間の比較）	31
5.1.	<i>In vivo</i>	31
5.1.1.	マウス	31
5.1.2.	ラット	31
5.1.3.	イヌ	32
5.1.4.	推定代謝経路	33
5.2.	<i>In vitro</i>	34

5.2.1.	ヒト S9 分画、血漿及び血液中安定性	34
5.2.2.	細胞内活性化に関与する酵素の検討	35
5.2.3.	代謝安定性	40
5.2.4.	代謝に関与する CYP 分子種の同定	41
5.2.5.	細胞内活性化経路	41
5.3.	細胞内活性化経路を含む推定代謝経路	42
6.	排泄	43
6.1.	マウス	43
6.2.	ラット	43
6.3.	イヌ	44
7.	薬物相互作用	45
7.1.	CYP を介した相互作用	45
7.1.1.	ソホスブビル、GS-9851 及び代謝物による CYP 阻害	45
7.1.2.	ソホスブビル代謝の CYP 阻害剤及び他の抗 HCV 薬による阻害	46
7.1.3.	ソホスブビルの肝酵素誘導作用	47
7.2.	UGT1A1 を介した相互作用	47
7.3.	薬物トランスポーターを介した相互作用	48
7.3.1.	P-gp	48
7.3.2.	BCRP、MRP2、OATP、OAT1、OAT3、OCT1、BSEP	50
8.	その他の薬物動態試験	53
8.1.	製剤間比較試験	53
8.2.	ソホスブビルと GS-9851 のブリッジング試験	53
8.2.1.	ラット 14 日間反復投与 (TK 試験)	53
8.2.2.	イヌ 14 日間反復投与 (TK 試験)	53
9.	考察及び結論	55
10.	図表	57
11.	参考文献	58

表目次

表 2.6.4- 1 ソホスブビルの薬物動態試験一覧.....	11
表 2.6.4- 2 各試験で使用した標識化合物の比放射活性及び純度.....	16
表 2.6.4- 3 Caco-2 単層膜細胞を用いたソホスブビルの膜透過性.....	18
表 2.6.4- 4 マウスでの GS-9851 50 mg/kg 経口投与後の PK パラメーター.....	20
表 2.6.4- 5 ラットでの GS-9851 50 mg/kg 経口投与後の PK パラメーター.....	20
表 2.6.4- 6 イヌでのソホスブビル 5 mg/kg 経口投与後の血漿中 PK パラメーター.....	21
表 2.6.4- 7 雄 SD ラットでの [¹⁴ C]ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後の放射能の組織内分布.....	28
表 2.6.4- 8 ソホスブビルのイヌ及びヒトでの血漿タンパク結合率.....	29
表 2.6.4- 9 GS-331007 の血漿タンパク結合率.....	29
表 2.6.4- 10 ソホスブビル及び GS-331007 による CYP 分子種阻害.....	46
表 2.6.4- 11 ソホスブビルの肝酵素誘導作用.....	47
表 2.6.4- 12 ソホスブビル、GS-606965 及び GS-331007 のヒト肝ミクロソーム UGT1A1 に対する阻害作用.....	48
表 2.6.4- 13 Caco-2 単層膜細胞を用いた抗 HCV 薬によるソホスブビル膜透過への影響.....	49
表 2.6.4- 14 各トランスポーターとの相互作用試験の試験系.....	51
表 2.6.4- 15 ソホスブビル及び GS-331007 による各種トランスポーターの阻害.....	52

図目次

図 2.6.4- 1 [¹⁴ C]ソホスブビルの構造式.....	16
図 2.6.4- 2 [³ H]GS-9851 の構造式	16
図 2.6.4- 3 [¹⁴ C]GS-331007 の構造式	17
図 2.6.4- 4 イヌでのソホスブビル 5 mg/kg 経口投与後の肝臓中代謝物濃度推移	22
図 2.6.4- 5 雄 SD ラットでの[¹⁴ C]ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後 1 時間のラジオオ ートグラム (動物番号 : No. 1)	27
図 2.6.4- 6 [¹⁴ C]ソホスブビルを経口投与後の血漿、尿、糞及び乳汁中の推定代謝経路	34
図 2.6.4- 7 GS-9851 をカテプシン A 発現系とインキュベートした後のクロマトグラム	36
図 2.6.4- 8 GS-9851 を CES1 及び CES2 発現系とインキュベートした後のクロマトグラム	37
図 2.6.4- 9 各肝細胞での GS-9851 の GS-461203 への活性化	39
図 2.6.4- 10 ヒト肝細胞での GS-9851 の代謝	39
図 2.6.4- 11 GS-9851、GS-491241 及びソホスブビルの細胞内活性化経路	42
図 2.6.4- 12 細胞内活性化経路を含む推定代謝経路	42
図 2.6.4- 13 胆管カニューレ挿入ラットでの[¹⁴ C]ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後の 累積排泄率	44

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ®錠 400 mg

ソホスブビル並びにそのジアステレオマー及び代謝物の説明

開発番号 (旧開発番号) 一般名 略称	構造式	説明
GS-7977 (PSI-7977) ソホスブビル SOF		原薬 ヌクレオチドプロドラッグ
GS-491241 (PSI-7976)		ヌクレオチドプロドラッグ ジアステレオマー
GS-9851 (PSI-7851)		ヌクレオチドプロドラッグ：ソホスブビル及びそのジアステレオマー (GS-491241) の混合物 (1 : 1)
GS-566500 (PSI-352707)		代謝物 ヌクレオシド誘導体一リン酸アラニン
GS-331007 (PSI-6206)		代謝物 ヌクレオシド誘導体
GS-606965 (PSI-7411)		代謝物 ヌクレオシド誘導体一リン酸
GS-607596 (PSI-7410)		代謝物 ヌクレオシド誘導体二リン酸
GS-461203 (PSI-7409)		活性代謝物 ヌクレオシド誘導体三リン酸

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

略号一覧

略号	日本語	英語
AAG	α1-酸性糖タンパク	alpha-1 acid glycoprotein
ABT	1-アミノベンゾトリアゾール	1-aminobenzotriazole
AUC	濃度一時間曲線下面積	the area under the concentration versus time curve
AUC _{0-x}	時間 0 から x 時間までの濃度一時間曲線下面積	partial area under the concentration versus time curve from time “0” to time “x”
BCRP	乳癌耐性タンパク質	breast cancer resistance protein
BLQ	定量下限未満	below the limit of quantification
BSEP	胆汁酸塩排泄ポンプ	bile salt export pump
CatA	カテプシン A	cathepsin A
CES	カルボキシルエステラーゼ	carboxylesterase
CHO	チャイニーズハムスターの卵巣	chinese hamster ovary
C _{max}	最高濃度	the maximum concentration of drug
CMP	シチジンーリン酸	cytidine monophosphate
CNS	中枢神経系	central nervous system
CsA	シクロスボリン A	cyclosporin A
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DMSO	ジメチルスルホキシド	dimethyl sulfoxide
E3S	エストロンサルフェート	estrone-3-sulfate
FMO	フラビンモノオキシゲナーゼ	flavin-containing monooxygenase
GI	消化管	gastrointestinal
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準	Good Laboratory Practice
HCV	C 型肝炎ウイルス	hepatitis C virus
HepG2	ヒト肝がん細胞株	human hepatocarcinoma cell line
Hint1	-	histidine triad nucleotide binding protein 1
HSA	ヒト血清アルブミン	human serum albumin
Huh-7	ヒト肝がん細胞株	human hepatocarcinoma cell line
IC ₅₀	50%阻害濃度	concentration resulting in 50% inhibition
LC	高速液体クロマトグラフィー	high performance liquid chromatography
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー	high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry
LE	-	Long-Evans
LSC	液体シンチレーションカウンター	liquid scintillation counter
MATE	有機カチオン/H ⁺ 交換トランスポーター	multidrug and toxin extrusion transporter
MDCKII	イヌ腎臓尿細管上皮細胞	Madin-Darby canine kidney cells

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

略号一覧（続き）

略号	日本語	英語
mRNA	メッセンジャーRNA	messenger RNA
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NDP	ヌクレオシド二リン酸	nucleoside diphosphate
NNI	非ヌクレオシド阻害剤	Non nucleoside inhibitor
NS5A	非構造タンパク質5A	nonstructural protein 5A
NS5B	非構造タンパク質5B	nonstructural protein 5B
OAT	有機アニオントランスポーター	organic anion transporter
OATP	有機アニオントランスポーター タンパク	organic anion transporting polypeptide
OCT	有機カチオントランスポーター	organic cation transporter
Papp	みかけの膜透過係数	apparent permeability coefficient
PAH	p-アミノ馬尿酸	p-aminohippuric acid
PBMC	末梢血単核球細胞	peripheral blood mononuclear cells
PEG	ポリエチレングリコール	polyethylene glycol
P-gp	P-糖タンパク質	p-glycoprotein
PK	薬物動態	pharmacokinetics
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー	quantitative whole body autoradiography
RFD	ラジオ検出器	radio flow through detector
RNA	リボ核酸	ribonucleic acid
RT-PCR	逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖 反応法	reverse transcriptase-polymerase Chain reaction
SD	-	Sprague-Dawley
SGF	人工胃液	simulate gastric fluid
SIF	人工腸液	simulate intestinal fluid
$t_{1/2}$	消失半減期	estimate of the terminal elimination half-life of the drug in serum/plasma/PBMC, calculated by dividing the natural log of 2 by the terminal elimination rate constant (λz)
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetic
T_{max}	最高濃度到達時間	time to maximal concentration
UDP	ウリジン二リン酸	uridine diphosphate
UDPGA	ウリジン二リン酸グルクロン酸	uridine 5'-diphosphate glucuronic acid
UMP	ウリジン一リン酸	uridine monophosphate
UGT	ウリジン二リン酸-グルクロン 酸転移酵素	uridine diphosphate-glucuronosyltransferase

1. まとめ

ソホスブビル (GS-7977) は、C 型肝炎ウイルス (HCV) 非構造タンパク質 5B (NS5B) を標的とした新規の直接阻害薬であり、*in vitro* で HCV レプリコンリボ核酸 (RNA) の複製に対する強い阻害作用を示す。ソホスブビルは、2' -デオキシ-2' -フルオロ-2' -C-メチルウリジン-リシン酸 (GS-606965) のヌクレオチドプロドラッグであり、肝細胞内で活性代謝物であるウリジン三リシン酸体 (GS-461203) に変換される。本項ではソホスブビルの吸収、分布、代謝及び排泄試験の結果を記載した。また、ソホスブビルと他剤との相互作用についても評価した。ソホスブビルの薬物動態 (PK) 試験一覧を表 2.6.4-1 に示す。

試験にはソホスブビル又は GS-9851 を使用した。GS-9851 は、ソホスブビル及びそのジアステレオマーである GS-491241 の混合物であり、その比率は約 1 : 1 である。開発初期の非臨床及び臨床試験では GS-9851 を使用したが、その後の開発及び承認申請にはソホスブビルを選択した。

ラット及びイヌでのソホスブビル及び GS-9851 反復投与後のトキシコキネティクス (TK) 試験の結果では、いずれの動物種においてもソホスブビルと GS-9851 の PK パラメーターに類似性が認められた。この様に、ソホスブビルと GS-9851 は同様の薬物動態学的特徴を有すると考えられたため、全ての試験はソホスブビルの PK プロファイルの評価に使用できると考えられた。

ソホスブビルの吸収は良好であり、毒性試験で用いられた動物種でも十分な薬剤関連物の曝露が認められた。ソホスブビル又は GS-9851 の経口投与により、マウス、ラット、イヌ及びサル並びに妊娠ウサギで、主要代謝物である GS-331007 (ヌクレオシド誘導体) 及び GS-566500 (ヌクレオシド誘導体-リシン酸アラニン) の高濃度の曝露が認められた。ソホスブビルは経口投与可能なプロドラッグであり、ソホスブビル及び GS-9851 経口投与後のラット及びイヌの肝臓内で効率的に高濃度の活性代謝物である GS-461203 が生成された。また、毒性試験でのマウス肝臓中でも GS-461023 が検出された (2.6.4.2.1 項)。門脈にカニューレを挿入したイヌでのソホスブビル経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティは 9.89%、吸収率は 39.7%、肝抽出率は 74% であった。なお、マウス及びラットでは血漿中エステラーゼ活性が高いために未変化体の全身曝露量が低下したが、GS-331007 を含む主要代謝物は高濃度で検出された。

雄 Sprague-Dawley (SD) ラット並びに妊娠、非妊娠及び分娩後雌 SD ラットでの [¹⁴C] ソホスブビル経口投与後の組織内分布試験では、消化管、リンパ系及び排泄系組織において高濃度の放射能が認められた。雄ラットでの放射能の肝臓／血漿中濃度比は、最高血漿中濃度 (C_{max}) 到達時点で約 15 : 1 であり、投与後 24 時間で 20 : 1 かそれ以上であった。また、低濃度の放射能が脳及び中枢神経系 (CNS) で認められた。雄有色ラットでの [¹⁴C] ソホスブビルの組織内分布は雄白色ラットと同様であった。妊娠ラットの羊水に放射能が検出されたことから、 [¹⁴C] ソホスブビルの胎盤通過性が示唆された。分娩後ラットでの放射能の乳汁移行は低く、授乳児ラットでの放射能は低濃度であった。

ソホスブビルは加水分解により広範に代謝され、全ての動物種で主要代謝物である GS-331007 及び GS-566500 の高い曝露が認められた。マウス、ラット及びイヌでの [¹⁴C] ソホスブビル単回経口投与後の血漿中主要代謝物は GS-331007 であり、いずれの動物種でも血漿中総放射能の 80% 以

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

上を占めていた。また、GS-331007 は全動物種の尿及び糞中においても主要代謝物であった。ラット胆汁中の主要代謝物は GS-566500 であった。

マウス、ラット及びイヌにおいて、ソホスブビルは GS-331007 として主に尿中に排泄され、各動物での尿中排泄率は投与放射能の 66%、72% 及び 81% であった。また、放射能のほとんどが投与後 48 時間以内に排泄され、168 時間までの放射能総回収率は 85% 以上であった。

ソホスブビルの細胞内活性化経路について検討した。ソホスブビルは、カルボキシルエステラーゼ (CES) 1 又はカテプシン A (CatA) によるエステル開裂及び Histidine triad nucleotide binding protein 1 (Hint1) によるリン酸アミド開裂の加水分解後、ピリミジンヌクレオチド生合成経路を介してリン酸化される。各動物種の肝細胞のインキュベートで、活性代謝物である GS-461203 が効率的に生成されることが示された。高濃度の GS-461203 の生成はイヌに経口投与した後の肝臓でも認められている。ソホスブビルの細胞内活性化は、一般的に薬剤の薬理的有効濃度では阻害されない低親和性／高活性である加水分解酵素 (CES1、CatA、Hint1) 及びヌクレオシドのリン酸化 [ウリジン-リン酸-シチジン-リン酸 (UMP-CMP) キナーゼ及びヌクレオシドニリン酸 (NDP) キナーゼ] 経路を介している。

ソホスブビルはシトクロム P450 (CYP) の基質ではないことが示されたことから、他剤との CYP を介した薬物相互作用の可能性は低いと考えられた。一方、ソホスブビルは P-糖タンパク質 (P-gp) 及び乳癌耐性タンパク質 (BCRP) の基質であることが示されたことから、これらの消化管排出トランスポーターの阻害剤や誘導剤との併用による薬物相互作用の可能性が考えられた。消化管における P-gp の発現はプレグナン X 受容体の影響を受けるため、この核内受容体と相互作用するリファンピン及びセイヨウオトギリソウを含む P-gp 誘導剤との併用で、ソホスブビルの吸収が低下する可能性がある。また、アリル炭化水素受容体が BCRP の誘導に関与するとの報告があるが、臨床的に意義のある報告は認められていない。

ソホスブビルは CYP の阻害剤及び誘導剤ではないことが示されている。ソホスブビルの代謝に フラビンモノオキシゲナーゼ (FMO) 及びウリジン二リン酸-グルクロン酸転移酵素 (UGT) は関与しておらず、UGT1A1 に対する阻害作用も認められなかった。また、P-gp 及び BCRP の阻害剤でもなかった。したがって、ソホスブビルは CYP、FMO 及び UGT の基質並びに P-gp 及び BCRP の基質となる薬剤と併用しても薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

ソホスブビルは、肝取り込みトランスポーターである有機カチオントランスポーター (OCT) 1、有機アニオントランスポータータンパク (OATP) 1B1 及び OATP1B3 の基質並びに阻害剤ではなかった。また、胆汁酸塩排泄ポンプ (BSEP) を阻害しなかった。GS-331007 は腎臓から排泄されるが、有機アニオントランスポーター (OAT) 1、OAT3、OCT2 及び有機カチオン／H⁺交換トランスポーター (MATE) 1 の基質又は明らかな阻害剤でないことが示された。これらのことから、ソホスブビルと上記トランスポーターの基質及び阻害剤を併用しても薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

以上の結果より、ソホスブビルの非臨床薬物動態プロファイルにより、成人 HCV 感染患者の治療における本剤の効果的な使用の妥当性が示された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

表 2.6.4-1 ソホスブビルの薬物動態試験一覧

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
吸收					
Caco-2 細胞を用いた膜透過性の評価	Caco-2	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル	AD-334-2003
人工胃液及び人工腸液中安定性	NA	<i>In vitro</i>	否	GS-491241 ソホスブビル	PC-PSI-7977-09-0003
	NA	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0012
マウス単回経口投与後の血漿及び肝臓中濃度	マウス	経口	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0019
ラット単回経口投与後の血漿及び肝臓中濃度	ラット	経口	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0017
イヌ単回経口投与後の血漿及び肝臓中濃度	イヌ	経口	否	ソホスブビル	AD-334-2012
イヌ単回経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティ	イヌ	経口 静脈内	否	ソホスブビル	AD-334-2011
イヌ及びサル経口投与後の血漿及び肝臓中濃度	イヌ サル	経口	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0018
マウス 3 カ月間反復投与試験	マウス	経口	適	ソホスブビル	SA-PSI-7977-09-0008
ラット 6 カ月間反復投与試験	ラット	経口	適	ソホスブビル	SA-PSI-7977-10-0004
イヌ 9 カ月間反復投与試験	イヌ	経口	適	ソホスブビル	SA-PSI-7977-10-0003
ウサギ胚・胎児発生に関する試験	ウサギ	経口	否	ソホスブビル	SA-PSI-7977-11-0005
ウサギ胚・胎児発生に関する試験	ウサギ	経口	適	ソホスブビル	SA-PSI-7977-11-0006
分布					
ラット単回経口投与後の組織内分布	ラット	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	SA-PSI-7977-09-0005
タンパク結合率	マウス、 ラット、 ウサギ、 イヌ、 ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-331007	PC-PSI-7977-11-0001
ラット経口投与後の胎盤通過及び乳汁移行	ラット	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	SA-PSI-7977-11-0008
代謝					
マウス経口投与後の血漿、尿及び糞中代謝物の同定	マウス	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	PC-PSI-7977-11-0008
ラット経口投与後の血漿、尿胆汁、肝臓及び糞中代謝物の同定	ラット	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	CH-PSI-7977-09-0002

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

表 2.6.4-1 ソホスブビルの薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適合	被験物質	試験番号
ラット経口投与後の血漿及び乳汁中代謝物の同定	ラット	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	PC-PSI-7977-11-0009
イヌ経口投与後の血漿、尿及び糞中代謝物の同定	イヌ	経口	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	CH-PSI-7977-09-0001
S9 分画及び血漿中安定性	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-491241	PC-PSI-7977-09-0002
				GS-9851	PC-PSI-7851-08-0013
ラット血液中安定性	ラット	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0015
血液中安定性	マウス、イヌ、サル及びヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0016
CatA による加水分解	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0026
CES1 及び CES2 による加水分解	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-09-0014
CatA 及び CES1 による加水分解	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-491241	PC-PSI-7977-09-0001
ヒト Hint1 発現系による GS-566500 の生成及び細胞内活性化	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-566500	AD-334-2018
ヒトキナーゼ発現系によるリン酸化	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-606965 GS-607596	AD-334-2019
肝細胞での GS-461203 の生成	ラット、イヌ、サル、ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-9851	PC-PSI-7851-08-0011
肝細胞での代謝	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[³ H]GS-9851	PC-PSI-7851-08-0001 4
				ソホスブビル	AD-334-2017
クローン A 細胞での代謝	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[³ H]GS-9851	PC-PSI-7851-08-0010
PBM 細胞での代謝	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[³ H]GS-9851	PC-PSI-7851-09-0003
肝細胞及びPBM 細胞での代謝の比較	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[¹⁴ C]ソホスブビル	PC-PSI-7977-11-0004
肝ミクロソームでの代謝安定性	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-566500 GS-606965 GS-331007	SA-PSI-7977-09-0004
CYP 発現系での代謝	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-331007	AD-334-2015

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ®錠 400 mg

表 2.6.4-1 ソホスブビルの薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
排泄					
マウス単回経口投与後の排泄	マウス	経口	否	[¹⁴ C]ソホスビル	SA-PSI-7977-11-0007
ラット単回経口投与後の排泄	ラット	経口	否	[¹⁴ C]ソホスビル	SA-PSI-7977-09-0003
イヌ単回経口投与後の排泄	イヌ	経口	否	[¹⁴ C]ソホスビル	SA-PSI-7977-10-0002
薬物相互作用					
ソホスビルの CYP 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル	PC-PSI-7977-09-0011
GS-9851 の CYP 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-9851 GS-331007 GS-461203 GS-607596 GS-606965 GS-566500	PC-PSI-7851-09-0009
ソホスビル及び GS-491241 の CYP 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル GS-331007	AD-334-2020
肝細胞でのソホスビル阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[¹⁴ C]ソホスビル	PC-PSI-7977-11-0002
肝細胞での CYP 阻害剤又は HCV 阻害薬のリン酸化への影響	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル	AD-334-2010
ソホスビルの CYP 誘導作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル	PC-PSI-7977-10-0005
UGT1A1 阻害	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル GS-606965 GS-331007	AD-334-2013
肝ミクロソームでのソホスビル、GS-331007 及び GS-606965 による UGT1A1 阻害	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル GS-606965 GS-331007	AD-334-2022
Caco-2 細胞での他の HCV 阻害薬によるソホスビルの膜透過阻害	Caco-2	<i>In vitro</i>	否	ソホスビル	AD-334-2002
Caco-2 細胞での P-gp 基質の評価	Caco-2	<i>In vitro</i>	否	[¹⁴ C]ソホスビル [¹⁴ C]GS-331007 ソホスビル GS-331007	████████ 8215026
ソホスビル及び GS-331007 の BCRP との相互作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[¹⁴ C]ソホスビル [¹⁴ C]GS-331007 ソホスビル GS-331007	PC-PSI-7977-11-0006

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバレディ[®]錠 400 mg

表 2.6.4-1 ソホスブビルの薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	GLP適否	被験物質	試験番号
ソホスブビル及び GS-331007 の MRP2 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル GS-331007	AD-334-2016
ソホスブビル及び GS-331007 の OATP1B1 及び 1B3 との相互作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	[¹⁴ C] ソホスブビル ソホスブビル GS-331007	PC-PSI-7977-11-0007
GS-331007 の OAT1 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-331007	AD-334-2021
ソホスブビルの OCT1 及び BSEP 阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	ソホスブビル	AD-334-2004
GS-331007 の肝細胞での各種トランスポーター阻害作用	ヒト	<i>In vitro</i>	否	GS-331007	AD-334-2005
その他の薬物動態試験					
イヌ単回経口投与後の製剤間比較	イヌ	経口	否	ソホスブビル	SA-PSI-7977-11-0004
ソホスブビルと GS-9851 のブリッジング試験 (14 日間反復投与)	ラット	経口	適	ソホスブビル GS-9851	SA-PSI-7977-09-0001
	イヌ	経口	適	ソホスブビル GS-9851	SA-PSI-7977-09-0002

BCRP: Breast cancer resistance protein, BSEP: Bile salt export pump, Cat A: Cathepsin A, CES: Carboxylesterase, CYP: Cytochrome P450, PBM: Peripheral blood mononuclear, Hint 1: Histidine triad nucleotide binding protein 1, MRP2: Multi drug resistance protein, NA: Not applicable, OAT1: Organic anion transporter, OATP: Oarganic anion transporting polypeptide, OCT: Organic cation transporter, UGT: Uridine diphosphate glucuronosyltransferase

2. 分析法

2.1. 血漿中ソホスブビル及び代謝物濃度定量法

(試験番号 CH-PSI-7851-09-0007、添付資料 [4.2.2.1.1](#)、評価資料)
(試験番号 CH-PSI-7851-09-0005、添付資料 [4.2.2.1.2](#)、評価資料)
(試験番号 CH-PSI-7851-09-0004、添付資料 [4.2.2.1.3](#)、評価資料)
(試験番号 QPS86-0905、添付資料 [4.2.2.1.4](#)、評価資料)
(試験番号 BA-334-2001、添付資料 [4.2.2.1.5](#)、評価資料)
(試験番号 BA-334-2002、添付資料 [4.2.2.1.6](#)、評価資料)
(試験番号 BA-334-2005、添付資料 [4.2.2.1.7](#)、評価資料)
(試験番号 BA-334-2004、添付資料 [4.2.2.1.8](#)、評価資料)
(試験番号 BA-334-2003、添付資料 [4.2.2.1.9](#)、評価資料)
(試験番号 CH-PSI-7977-10-0001、添付資料 [4.2.2.1.10](#)、評価資料)

マウス、ラット、イヌ及びウサギ血漿中ソホスブビル、GS-9851 及び代謝物濃度定量法を高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー (LC/MS/MS) 法にて確立した。

ラット及びイヌについて、血漿中 GS-9851、GS-566500、GS-606965 及び GS-331007 濃度定量法のバリデーション試験を実施した (試験番号 CH-PSI-7851-09-0007 及び CH-PSI-7851-09-0005)。ラット血漿中濃度定量法については定量範囲を変更した定量法 (試験番号 CH-PSI-7851-09-0004)、イヌ血漿中濃度定量法については内標準物質に安定同位体を使用した定量法 (試験番号 QPS86-0905) も確立した。その後、ラット及びイヌについて、GS-9851 及びソホスブビルの検出が同等であることを確認し (試験番号 BA-334-2001 及び BA-334-2002)、ラット及びイヌ血漿中ソホスブビル濃度定量法 (試験番号 BA-334-2005 及び BA-334-2004) を確立した。マウス及びウサギ血漿中ソホスブビル、GS-566500 及び GS-331007 濃度定量法は、ラット及びイヌ定量法を基にパーシャルバリデーションを行った (試験番号 BA-334-2003 及び CH-PSI-7977-10-0001)。

血漿試料は除タンパク法にて前処理を行った。除タンパク後の上清を乾固し、乾固後の残渣を再溶解した後、LC/MS/MS にて測定した。分析カラムに C18 カラム、移動相に 25 mmol/L ギ酸アンモニウム (pH2.5) 及び 0.1% ギ酸メタノール用い、グラジェント法で分離した。測定には PE Sciex API4000 MS/MS を使用し、ターボイオンスプレーのネガティブイオンモードで検出した。

バリデーションは GLP 下で実施した。各定量法のバリデーション結果を [2.6.5.2](#) 項に示した。いずれの定量法においても良好な選択性、感度、線形性、日内及び日間真度並びに精度が得られた。

2.2. 標識体分析法

2.2.1. 標識化合物

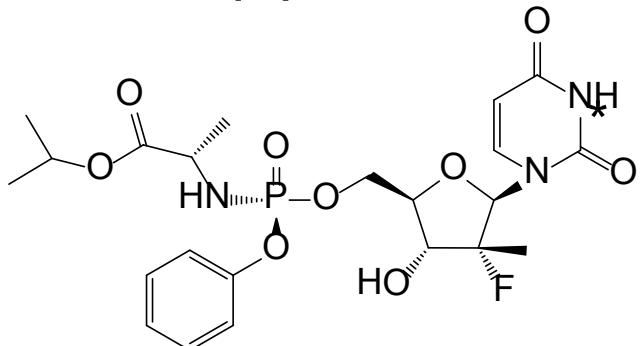
非臨床薬物動態試験で使用した放射性同位元素標識化合物 ($[^{14}\text{C}]$ ソホスブビル、 $[^3\text{H}]$ GS-9851 及び $[^{14}\text{C}]$ GS-331007) の構造及び標識位置を図 2.6.4- 1、図 2.6.4- 2 及び図 2.6.4- 3 に示す。 $[^{14}\text{C}]$ ソホスブビルはウラシル塩基の 2-位に標識した $[^{14}\text{C}]$ 標識体を使用した。

各試験で使用した標識化合物の比放射活性及び放射化学的純度を表 2.6.4- 2 に示す。

表 2.6.4- 2 各試験で使用した標識化合物の比放射活性及び純度

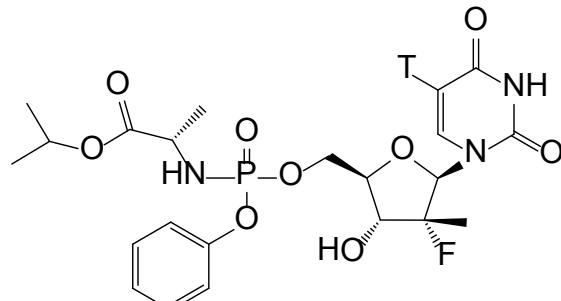
	Lot Number	Specific activity	Radiochemical purity
$[^{14}\text{C}]$ ソホスブビル	[REDACTED]	56.7 mci/mmol	99.9%
	[REDACTED]	56.7 mci/mmol	99.4%
$[^3\text{H}]$ GS-9851	[REDACTED]	12.9 Ci/mmol	98.6%
$[^{14}\text{C}]$ GS-331007	[REDACTED]	56.6 mCi/mmol	99.6%

図 2.6.4- 1 $[^{14}\text{C}]$ ソホスブビルの構造式



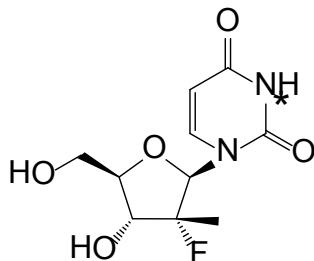
* : 標識位置

図 2.6.4- 2 $[^3\text{H}]$ GS-9851 の構造式



T : 標識位置

図 2.6.4- 3 [¹⁴C]GS-331007 の構造式



* : 標識位置

2.2.2. 分析法

各試験での放射能濃度は、液体シンチレーションカウンター (LSC、Perkin Elmer Model 2800TR 又は 2900TR : PerkinElmer Life Sciences) で測定した。試料中のクエンチングは、外部標準法により自動補正した。組織内放射能濃度は、定量的全身オートラジオグラフィー (QWBA, Typhoon9410TM image acquisition system : GE Healthcare/Molecular Dynamics) で定量を行った。ソホスブビル及び代謝物の同定は、逆相クロマトグラフィーで分離し、ラジオ検出器を備えた LC/MS/MS (LC/MS/RFD) 法又は LC/RFD 法で行った。

2.3. 血漿及び尿中での異性体変換

(試験番号 AD-334-2014、添付資料 4.2.2.1.11、評価資料)

ラット、イヌ及びヒト血漿並びにヒト尿中でのソホスブビルから GS-491241 への異性体変換について検討した。

イヌにソホスブビルを 500 mg/kg で投与後の血漿中サンプルを用いて、LC/MS/MS 法でソホスブビル及び GS-491241 を分離し、GS-491241 のソホスブビルに対するピーク面積比 (%) を算出した。GS-491241 のソホスブビルに対する割合は約 1.5% であり、被験物質に不純物として含まれている GS-491241 の割合 (2.0%) より少なかった。また、ラット、イヌ及びヒト血漿並びにヒト尿にソホスブビルをそれぞれ 2500、2500、5000 及び 10000 ng/mL になるように添加し、凍結保存及び試料前処理中でのソホスブビルの GS-491241 への変換を確認した。GS-491241 への変換はほとんどみられなかったことから、試料前処理及び分析中のソホスブビルから GS-491241 への変換はないと考えられた。

3. 吸収

Caco-2 単層膜細胞を用いた膜透過性並びに人工胃液及び腸液（それぞれ SGF 及び SIF）中での安定性を *in vitro* で評価した。また、マウス、ラット及びイヌでの PK 試験を実施し、ソホスブビル及び GS-9851 の吸収及び肝臓中での活性代謝物の生成を評価した。さらに、イヌ及びサルでの反復投与試験で、血漿中及び肝臓中の PK を評価した。反復投与後の蓄積性は、マウス、ラット及びイヌでの毒性試験での TK 試験の結果から評価した。

3.1. *In vitro* 試験

3.1.1. Caco-2 単層膜細胞での膜透過性

（試験番号 AD-334-2003、添付資料 4.2.2.2.1、評価資料）

ソホスブビルの膜透過性について Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した。使用した Caco-2 単層膜細胞は、経上皮電気抵抗、アテノロール透過性及びルシファーイエロー透過性を用いた評価での判定基準を満たした。Apical 側から basolateral 側（Forward）及び basolateral 側から apical 側（Reverse）への透過性を、10 $\mu\text{mol/L}$ から 2800 $\mu\text{mol/L}$ の濃度範囲で検討した。表 2.6.4-3 及び 2.6.5.3A 項に結果を示す。

ソホスブビルの排出において飽和傾向がみられ、efflux ratio (Reverse/Forward) は、10 $\mu\text{mol/L}$ での 49.7 から 2800 $\mu\text{mol/L}$ で 7.3 に減少した。Forward は、全ての試験濃度において低く、濃度に依存して増加した。400 mg 投与後の理論的な消化管内濃度 (3020 $\mu\text{mol/L}$) でのインキュベートでは、ソホスブビルの透過性は、生物薬剤学分類システムのクラス 1 モデル薬剤であるミノキシジルの透過性より低かった（それぞれ 0.708×10^{-6} cm/s 及び 6.64×10^{-6} cm/s）。

表 2.6.4-3 Caco-2 単層膜細胞を用いたソホスブビルの膜透過性

Direction	Target Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Initial Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Recovery (%)	Papp (10^{-6} cm/s)			Efflux Ratio
				R1	R2	Average	
Forward	10	9.65	93	0.23	0.21	0.22	49.7
Reverse		10.5	105	9.61	12.3	10.9	
Forward	700	803	97	0.25	0.31	0.28	35.4
Reverse		770	110	9.60	10.2	9.92	
Forward	2800	2560	111	0.42	0.35	0.38	7.3
Reverse		2930	115	2.52	3.05	2.79	

Papp: Apparent permeability coefficient

(Source: AD-334-2003, Table 1)

3.1.2. 人工胃液及び腸液中安定性

(試験番号 PC-PSI-7977-09-0003、添付資料 [4.2.2.2.2](#)、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0012、添付資料 [4.2.2.2.3](#)、参考資料)

GS-9851、ソホスブビル及び GS-491241 の SGF 及び SIF 中安定性を検討した。

ソホスブビル及び GS-491241 の SGF 中の消失半減期 ($t_{1/2}$) はそれぞれ 13.5 及び 20 時間以上であった (試験番号 PC-PSI-7977-09-0003)。ソホスブビル及び GS-491241 の SIF 中の $t_{1/2}$ は 20 時間以上であった。また、GS-9851 の SIF 及び SGF 中の $t_{1/2}$ は 20 時間以上であり、SIF 及び SGF 中で安定であることが示唆された (試験番号 PC-PSI-7851-08-0012)。

3.2. *In vivo* 試験

3.2.1. 単回投与

3.2.1.1. マウス

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0019、添付資料 [4.2.2.2.4](#)、参考資料)

CD-1 マウス (雄 3 匹/時点、体重 : 20~25 g) に GS-9851 を 50 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na) を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、12 及び 24 時間に採血し、血漿試料を得た。血漿中 GS-9851 及び GS-331007 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。また、投与後 0.5、1、2、4、6、12 及び 24 時間に肝臓を採取した。採取した肝臓をホモジナイズし、肝臓中 GS-9851、GS-331007 及び GS-461203 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿中及び肝臓中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4-4 及び [2.6.5.4A](#) 項に示した。血漿中 GS-9851 は投与後 0.25 及び 0.5 時間に検出されたものの、肝臓中には検出されなかった。血漿中 GS-331007 は投与後 1 時間に最高血漿中濃度 (C_{max}) 2774 ng/mL を示し、濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-inf}) は 24486 ng·h/mL であった。また、肝臓中 GS-331007 は投与後 1 時間に C_{max} 1676 ng/mL を示し、 AUC_{0-inf} は 12386 ng·h/mL であった。肝臓中に活性代謝物である GS-461203 は検出されなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

表 2.6.4- 4 マウスでの GS-9851 50 mg/kg 経口投与後の PK パラメーター

Parameter (units)	Plasma		Liver	
	GS-9851	GS-331007	GS-9851	GS-331007
C _{max} (ng/mL)	BLQ	2774	BLQ	1676
AUC _{0-t} (ng·h/mL)	NC	24453	NC	12326
AUC _{0-inf} (ng·h/mL)	NC	24486	NC	12386
T _{max} (h)	NC	1.00	NC	1.00
t _{1/2} (h)	NC	2.26	NC	2.80

Parameters are calculated from the mean concentration (n=3)

BLQ: Below the limit of quantification, NC: Not calculable

(Source: PC-PSI-7851-08-0019, Table 3)

3.2.1.2. ラット

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0017、添付資料 4.2.2.2.5、参考資料)

Sprague-Dawley (SD) ラット（雄 3 匹／時点、体重：220～280 g）に GS-9851 を 50 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 0.5%CMC-Na を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、12 及び 24 時間に採血し、血漿試料を得た。血漿中 GS-9851 及び GS-331007 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。また、投与後 0.5、1、2、4、6、12 及び 24 時間に肝臓を採取した。採取した肝臓をホモジナイズし、肝臓中 GS-9851、GS-331007 及び GS-461203 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿及び肝臓中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 5 及び 2.6.5.4B 項に示した。

GS-9851 は血漿中では投与後 0.25 時間の 1 匹に検出されたものの、その他の時点及び肝臓中では検出されなかった。血漿中 GS-331007 は投与後 4 時間に C_{max} 415 ng/mL を示し、AUC_{0-inf} は 3146 ng·h/mL であった。また、肝臓中 GS-331007 は投与後 1 時間に C_{max} 1786 ng/mL を示し、AUC_{0-inf} は 13842 ng·h/mL であった。GS-461203 は肝臓中に検出され、C_{max} 及び AUC_{0-inf} はそれぞれ 1935 ng/mL 及び 18081 ng·h/mL であった。ラット肝臓中の GS-331007 及び GS-461203 の曝露はほぼ同じであった。

表 2.6.4- 5 ラットでの GS-9851 50 mg/kg 経口投与後の PK パラメーター

Parameter (units)	Plasma		Liver		
	GS-9851	GS-331007	GS-9851	GS-331007	GS-461203
C _{max} (ng/mL)	BLQ	415	BLQ	1786	1935
AUC _{0-t} (ng·h/mL)	NC	3131	NC	13662	16796
AUC _{0-inf} (ng·h/mL)	NC	3146	NC	13842	18081
T _{max} (h)	NC	4.00	NC	1.00	4.00
t _{1/2} (h)	NC	2.96	NC	3.66	5.74

Parameters are calculated from the mean concentration (n=3)

BLQ: Below the limit of quantification, NC: Not calculable

(Source: PC-PSI-7851-08-0017, Table 3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

3.2.1.3. イヌ

3.2.1.3.1 血漿及び肝臓中濃度

(試験番号 AD-334-2012、添付資料 [4.2.2.2.6](#)、評価資料)

イヌ（雄 2 匹／時点、体重：10.0～11.7 kg）にペンタガストリンを前処置し、ソホスブビルを 5 mg/kg で単回経口投与した。投与媒体には 5%エタノール、55%ポリエチレングリコール（PEG）400 及び 40%クエン酸を含む緩衝液（pH2.2）を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。投与前並びに投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に採血し、血漿試料を得た。血漿中ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。また、投与後 4、8 及び 24 時間に肝臓を採取した。採取した肝臓をホモジナイズし、肝臓中 GS-331007、GS-566500、GS-606965、GS-607596 及び GS-461203 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。肝臓中各代謝物の濃度推移を

図 2.6.4- 4 に、血漿及び肝臓中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを表 2.6.4- 6 及び [2.6.5.4C](#) 項に示した。

ソホスブビルは速やかに吸収され、投与後 0.38 時間に C_{max} 519 ng/mL を示し、 AUC_{0-inf} は 418 ng/mL·h であった。また、消失も速やかで、0.29 時間の $t_{1/2}$ は、瞬時に生成する GS-566500 の最高濃度到達時間 (T_{max}) (0.75 時間) 及び引き続き生成する GS-331007 ($T_{max}=5$ 時間) の挙動と一致した。肝臓中では活性代謝物である GS-461203 濃度が全ての時点で最も高く、 C_{max} は投与後 8 時間で 23760 ng/mL であった。 $t_{1/2}$ は長く、17.8 時間と推定された。

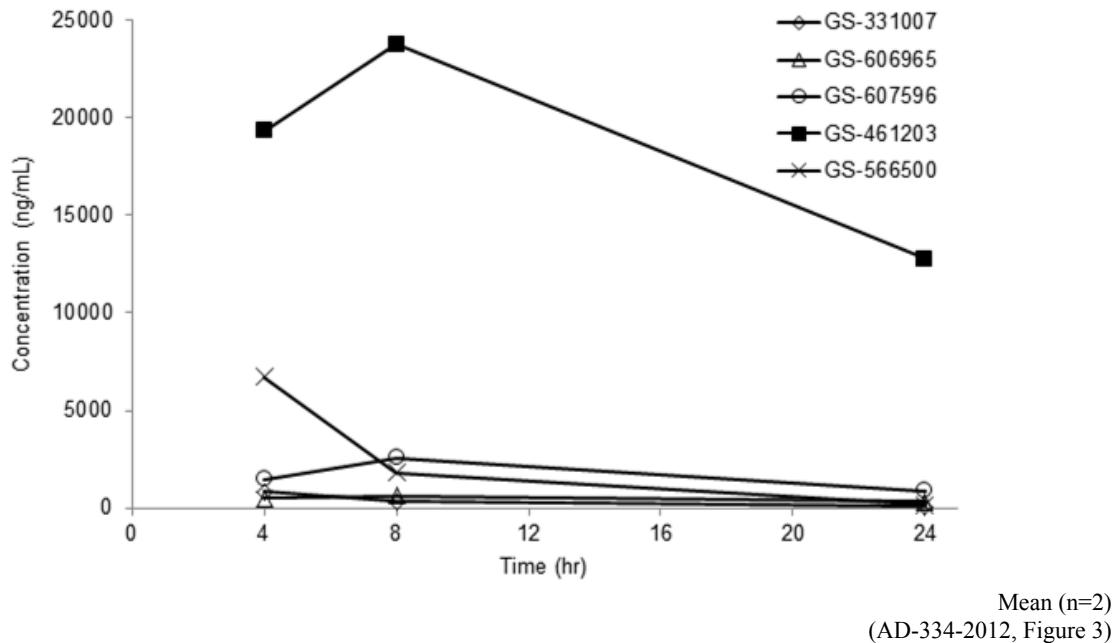
表 2.6.4- 6 イヌでのソホスブビル 5 mg/kg 経口投与後の血漿中 PK パラメーター

Parameter (units)	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007
AUC_{0-t} (ng/mL·h)	413	489	6895
AUC_{0-inf} (ng/mL·h)	418	563	7025
T_{max} (h)	0.38	0.75	5.00
C_{max} (ng/mL)	519	181	827
$t_{1/2}$ (h)	0.29	1.97	4.04

Data are represented as the mean of n=2.

(Source: AD-334-2012, Table2)

図 2.6.4-4 イヌでのソホスブビル 5 mg/kg 経口投与後の肝臓中代謝物濃度推移



3.2.1.3.2 絶対的バイオアベイラビリティ

(試験番号 AD-334-2011、添付資料 4.2.2.2.7、評価資料)

イヌ(雄3匹/群、体重:9.6~11.4 kg)にソホスブビルを 0.5 mg/kg で単回静脈内投与又は 5 mg/kg で単回経口投与した。経口投与ではソホスブビル投与前にペンタガストリンを前処置した。静脈内投与では投与媒体に 5%エタノール、45%PEG 400 及び 50%酢酸を含む緩衝液 (pH4) を用い、体重に基づいて 30 分かけて (0.64~0.76 mL/min) 投与した。経口投与では投与媒体に 5%エタノール、55%PEG 400 及び 40%クエン酸を含む緩衝液 (pH3.5) を用い、投与容量 2 mL/kg で投与した。静脈内投与では、投与前並びに投与後 0.25、0.483、0.583、0.75、1、1.5、2、4、8、12 及び 24 時間に頸動脈から採血し、血漿試料を得た。経口投与では、投与前並びに投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に頸動脈及び門脈から採血し、血漿試料を得た。血漿中ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを 2.6.5.4D 項に示した。

静脈内投与及び経口投与後の門脈血の AUC_{0-t} から算出した絶対的バイオアベイラビリティは 9.89% であった。ソホスブビルのクリアランスは 2.27 L/h/kg でイヌの肝血流量 (1.8 L/h/kg) を超えていた。経口投与後の頸動脈血及び門脈血中濃度から算出した肝抽出率は 0.74、吸収率は 39.7% であった。

3.2.2. 反復投与

3.2.2.1. イヌ及びサルでの血漿及び肝臓中濃度

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0018、添付資料 4.2.2.2.8、参考資料)

イヌ（雄1匹、体重：8.08 kg）及びサル（雄1匹、体重：5.80 kg）にGS-9851を50 mg/kgで4日間反復経口投与した。投与媒体には20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンを用い、投与容量2.5 mL/kgで投与した。投与3日目の投与前並びに投与後0.25、0.5、1、2、4、6、12及び24時間に採血し、血漿試料を得た。また、投与4日目の投与後4時間に肝臓を採取した。血漿中GS-9851、GS-331007及びGS-566500濃度並びに肝臓中GS-9851、GS-331007、GS-566500及びGS-461203濃度をLC/MS/MS法にて測定した。血漿及び肝臓中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出したPKパラメーターを2.6.5.5A項に示した。

GS-9851は速やかに吸収され、イヌ及びサル血漿中でのT_{max}はそれぞれ0.5及び1時間であった。イヌ及びサルとともにGS-331007の曝露量はGS-9851の曝露量を上回った。また、投与4日目の投与後4時間の肝臓中濃度の結果から、イヌ及びサルとともにGS-566500が主要な肝細胞内代謝物であることが示された。イヌではGS-461203が高濃度（10.6 μg/g）で検出されたが、サルでは検出下限未満であった。

3.2.2.2. マウス3ヵ月間反復投与（TK試験）

(試験番号 SA-PSI-7977-09-0008、添付資料 4.2.3.2.2、評価資料)

マウスでのソホスブビル3ヵ月間反復経口投与毒性試験でTK試験を実施した。

CD-1マウス（雌雄各3匹／時点、週齢：6～7週、投与時体重：雄平均38.9～39.4 g、雌平均30.7～31.7 g）にソホスブビル100、300及び1000 mg/kgを1日1回91、92及び93日間経口投与した。投与媒体には5%ポリソルベート80/95%PEG400を用い、5 mL/kgの投与容量で投与した。1及び87日目の投与前並びに投与後1、2、4、8、12及び24時間に血液を採取し、血漿試料を得た。血漿中ソホスブビル、GS-331007及びGS-566500濃度をLC/MS/MSにて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出したPKパラメーターを2.6.5.5B項に示した。

血漿中ソホスブビル濃度はいずれの時点でも定量下限未満であった。GS-566500濃度は、投与1日目では性差はみられなかつたが、投与87日目では雄より雌で高かつた（2倍以内）。また、GS-331007濃度は投与1日目及び87日目ともに雄より雌で高かつた（最大で3.6倍）。雌雄とともに反復投与による明らかな蓄積性はみられなかつた。GS-331007の1日目のAUC_{last}は雌雄とともに投与量比を下回つたが、GS-566500はほぼ投与量に比例して増加した。

3.2.2.3. ラット6ヵ月間反復投与（TK試験）

(試験番号 SA-PSI-7977-10-0004、添付資料 4.2.3.2.6、評価資料)

ラットでのソホスブビル6ヵ月間反復経口投与毒性試験でTK試験を実施した。

SDラット（雌雄各3匹／時点、週齢：6～8週、投与時体重：雄平均235.0～238.7 g、雌平均179.9

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

～183.8 g) にソホスブビル 20、100 及び 500 mg/kg を 1 日 1 回 6 カ月間経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80/95%PEG 400 を用い、5 mL/kg の投与容量で投与した。1 及び 178 日目の投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液を採取し、血漿試料を得た。血漿中 GS-331007 濃度を LC/MS/MS にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.5C 項](#) に示した。

GS-331007 の AUC₀₋₂₄ は、投与 1 日目では雌より雄で高かったが、投与 178 日目では性差はみられなかった。また、雄では反復投与による明らかな蓄積性はみられなかったが、雌では投与 178 日目で投与 1 日目に比べて最大で AUC₀₋₂₄ が 1.8 倍上昇した。雄では曝露量の増加は投与量比を下回った。雌では 20 及び 100 mg/kg 投与後の曝露量の増加は投与量比を下回ったが、100 及び 500 mg/kg 投与後では投与量にほぼ比例していた。

3.2.2.4. イヌ 9 カ月間反復投与 (TK 試験)

(試験番号 SA-PSI-7977-10-0003 添付資料 [4.2.3.2.10.2](#)、評価資料)

イヌでのソホスブビル 9 カ月間反復経口投与毒性試験で TK 試験を実施した。

イヌ (雌雄各 6 匹/時点、週齢: 6～7 カ月、投与時体重: 雄 6.940～7.232 kg、雌 6.804～6.946 kg) にゼラチンカプセルに充填したソホスブビル 20、100 及び 500 mg/kg を 1 日 1 回 9 カ月間経口投与した。1 及び 273 日目の投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液を採取し、血漿試料を得た。血漿中 GS-331007 濃度を LC/MS/MS にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.5D 項](#) に示した。

GS-331007 の AUC₀₋₂₄ に性差はみられなかった。また、ソホスブビルの投与量増加に伴う GS-331007 の曝露量増加は投与量比を下回った。9 カ月間の反復投与による明らかな蓄積性はみられなかった。

3.2.2.5. ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (TK 試験)

(試験番号 SA-PSI-7977-11-0005 添付資料 [4.2.3.5.2.3](#)、参考資料)

(試験番号 SA-PSI-7977-11-0006 添付資料 [4.2.3.5.2.4](#)、評価資料)

ウサギでの胚・胎児発生に関する試験で TK 試験を実施した。

New Zealand White 妊娠ウサギ (雌 3 匹/群、週齢: 5～7 カ月、体重: 3～5 kg) にソホスブビル 9、30、90 及び 300 mg/kg (試験番号 SA-PSI-7977-11-0005) 又は 0 (水又は投与媒体)、30、90 及び 300 mg/kg (試験番号 SA-PSI-7977-11-0006) を妊娠 6 日目～19 日目まで 1 日 1 回経口投与した。投与媒体には PEG 400 を用い、1 mL/kg の投与容量で投与した。妊娠 6 日目及び 19 日目の投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液を採取し、血漿試料を得た。血漿中ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 濃度を LC/MS/MS にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.5E](#) 及び [2.6.5.5F 項](#) に示した。

ソホスブビルの投与量増加に伴い、ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 の曝露量も増加した。AUC₀₋₂₄ は全ての投与量でソホスブビルよりも代謝物の方が大きかった。妊娠 19 日目のソ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ゾバルデイ[®]錠 400 mg

ホスブビル及び代謝物の AUC₀₋₂₄ は妊娠 6 日目と比較して同様か又は大きかった。

4. 分布

4.1. 組織内分布試験

4.1.1. SD ラット及び Long-Evans ラットでの組織内分布

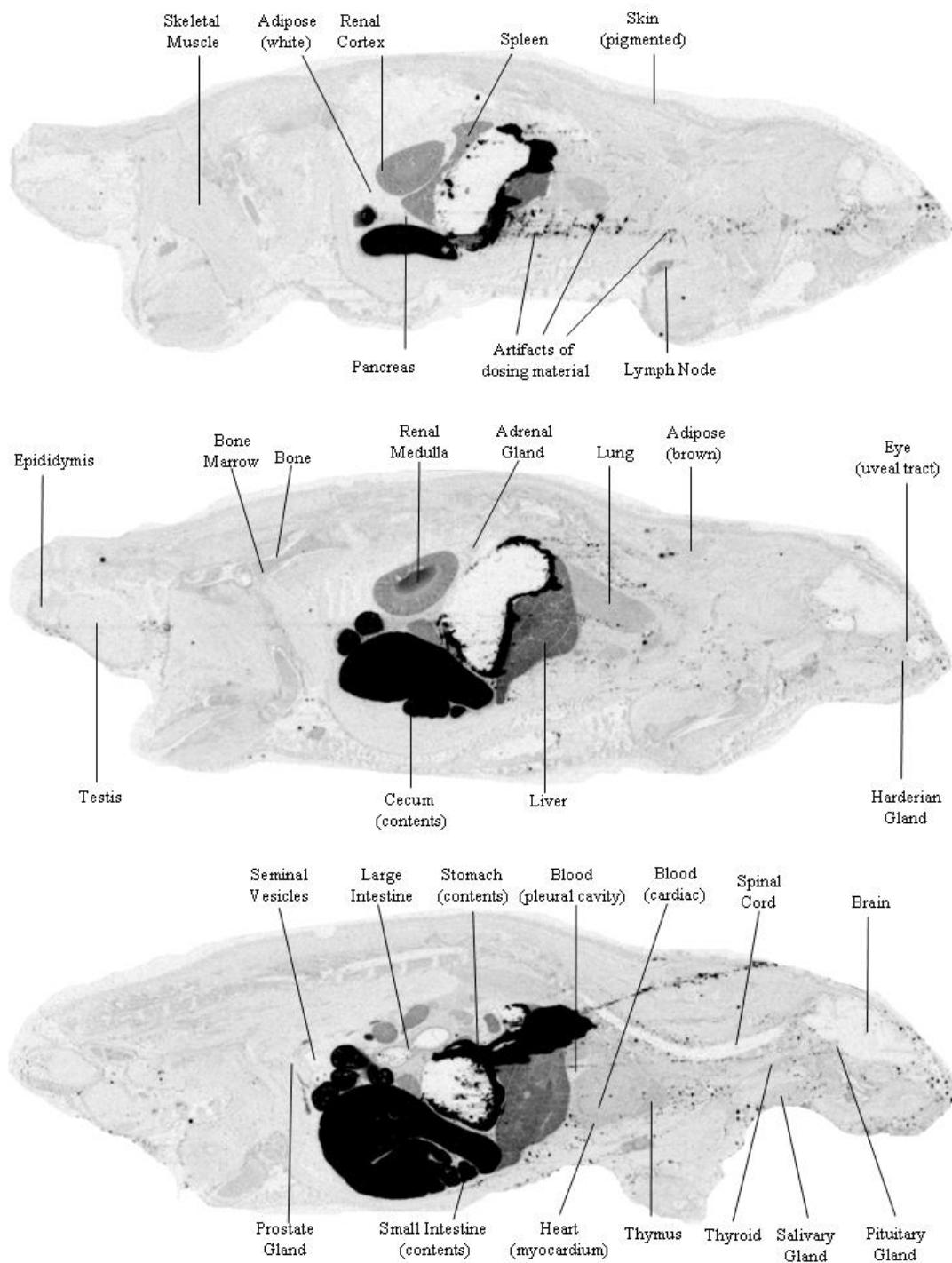
(試験番号 SA-PSI-7977-09-0005、添付資料 [4.2.2.3.1](#)、評価資料)

ソホスブビルの組織内分布を、SD ラット（白色ラット）及び Long-Evans (LE) ラット（有色ラット）を用いて定量的全身オートラジオグラフィー (QWBA) により評価した。

SD ラット（雄 1 匹／時点、体重：204～292 g）及び LE ラット（雄 1 匹／時点、体重：232～256 g）に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5% ポリソルベート 80/95%PEG 400 を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。SD ラットでは投与後 1、8、24、48 及び 144 時間に、LE ラットでは投与後 1、2、4、6、12、24、48、96 及び 168 時間に心採血し、QWBA に供した。血漿中放射能濃度は LSC にて測定した。SD ラットでの経口投与後 1 時間のオートラジオグラムを図 2.6.4- 5 に、血漿中濃度及び各組織中濃度を表 2.6.4- 7 及び [2.6.5.6](#) 項に示した。

単回経口投与後の放射能は各組織に広範に分布した。SD ラットではほとんどの組織で投与後 1 時間に最高放射能濃度が検出された。消化管、リンパ系及び排泄系組織において最も高い放射能 (10 μg equiv./g 以上) が検出された。血漿中濃度が T_{max} のときの放射能濃度は、中枢神経系、骨組織、眼水晶体及び白色脂肪組織で低かった (1 μg equiv./g 未満)。放射能は、最終測定時点（投与後 144 又は 168 時間）までにほぼ完全に組織から消失し、ほとんどの組織で放射能濃度は投与後 48 時間までに定量下限 (0.073 μg equiv./g) 以下に減少した。放射能の血液／血漿中濃度比は全ての測定時点で 0.69 から 1.28 の範囲であった。有色ラット及び白色ラット間で組織分布に明らかな差は観察されず、放射能のメラニンへの結合を示す兆候も認められなかった。

図 2.6.4-5 雄 SD ラットでの [¹⁴C] ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後 1 時間のラジオオートグラム (動物番号 : No. 1)



(Source: SA-PSI-7977-09-0005, Figure 1)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバレディ®錠 400 mg

表 2.6.4- 7 雄 SD ラットでの[¹⁴C]ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後の放射能の組織内分布

Tissue	Concentration (μg equiv./g)				
	1 h	8 h	24 h	48 h	144 h
Blood	1.247	0.648	BLQ	BLQ	BLQ
Plasma	1.800	0.708	0.025	BLQ	BLQ
Adipose (brown)	3.144	4.304	BLQ	BLQ	BLQ
Adipose (white)	0.357	0.641	BLQ	BLQ	BLQ
Adrenal Gland	2.616	2.320	BLQ	BLQ	BLQ
Bile (in duct)	NI	6.064	BLQ	BLQ	BLQ
Bone	0.304	0.108	BLQ	BLQ	BLQ
Bone Marrow	2.433	3.863	BLQ	BLQ	BLQ
Brain (cerebrum)	0.202	1.005	BLQ	BLQ	BLQ
Brain (cerebellum)	0.159	0.892	BLQ	BLQ	BLQ
Brain (medulla)	0.175	0.618	BLQ	BLQ	BLQ
Colon	5.396	9.926	0.199	BLQ	BLQ
Epididymis	1.504	1.510	BLQ	BLQ	BLQ
Eyes (uveal tract)	0.849	1.155	BLQ	BLQ	BLQ
Eyes (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Heart (myocardium)	5.040	3.133	BLQ	BLQ	BLQ
Large intestine	6.290	157.564	0.312	0.243	BLQ
Liver	23.628	10.277	0.688	0.178	BLQ
Lung	9.327	4.622	0.084	BLQ	BLQ
Lymph Node	9.008	10.120	0.256	0.094	BLQ
Pancreas	2.661	1.868	BLQ	BLQ	BLQ
Pituitary Gland	2.288	1.539	BLQ	BLQ	BLQ
Prostate Gland	0.856	0.924	BLQ	BLQ	BLQ
Renal Cortex	9.121	7.359	0.217	0.084	BLQ
Renal Medulla	8.730	4.105	BLQ	BLQ	BLQ
Salivary Gland	2.571	2.101	BLQ	BLQ	BLQ
Seminal Vesicles	0.379	0.297	BLQ	BLQ	BLQ
Skeletal Muscle	0.746	1.550	BLQ	BLQ	BLQ
Skin (nonpigmented)	1.853	2.759	BLQ	BLQ	BLQ
Small Intestine	395.694	9.263	3.554	0.488	BLQ
Spinal Cord	0.149	0.453	BLQ	BLQ	BLQ
Spleen	10.327	14.523	0.223	0.101	BLQ
Stomach (gastric mucosa)	77.939	23.517	BLQ	BLQ	BLQ
Testis	0.419	1.033	BLQ	BLQ	BLQ
Thymus	4.618	12.132	0.248	0.117	BLQ
Thyroid	5.003	4.151	BLQ	BLQ	BLQ
Urinary Bladder	5.114	2.068	2.901	2.898	BLQ
Urinary Bladder (contents)	18.719	55.913	5.058	0.967	0.790

BLQ: Below the limit of quantitation (0.073 μg equivalent/gram tissue), h: Hour(s), NI: Tissue not identified on whole-body sections

(Source: SA-PSI-7977-09-0005, Table 4)

4.2. 血漿タンパク結合率

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0001、添付資料 4.2.2.3.2、評価資料)

ソホスブビル及び GS-331007 の血漿タンパク結合率を、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿を用いて限外ろ過法で検討した。また、ヒト血清アルブミン (HSA) 及び α 1-酸性糖タンパク (AAG) とのタンパク結合についても検討した。

ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した GS-331007 をマウス、ラット、ウサギ及びイヌ血漿に添加し、1、5、25 及び 100 μ g/mL の血漿試料を調製した。また、ソホスブビル又は GS-331007 をヒト血漿、AAG 及び HSA に 0.1、1、10 及び 20 μ g/mL になるように添加した。さらに、ソホスブビルをイヌ血漿に 1、5、25 及び 100 μ g/mL になるように添加した。全ての試料を 37°C でインキュベートした後、限外ろ過を行い、LC/MS/MS 法にてソホスブビル及び GS-331007 濃度を測定し、タンパク結合率を算出した。ソホスブビル及び GS-331007 の血漿タンパク結合率を表 2.6.4- 8 及び表 2.6.4- 9 に示した。

ソホスブビルのイヌ及びヒト血漿タンパク結合率は 70% 未満で低値であった。ヒト血漿及び血清タンパク結合率は、ソホスブビル濃度 0.1 μ g/mL から 20 μ g/mL の範囲で、ほぼ一定であったが、AAG に対する結合率には濃度依存性が認められた。なお、GS-331007 の血漿タンパク結合率は、いずれの動物種でも 10% 未満であった。

表 2.6.4- 8 ソホスブビルのイヌ及びヒトでの血漿タンパク結合率

Sofosbuvir Unbound %					
Conc. (μ g/mL)	Human Plasma	Human AAG (1 mg/mL)	HSA (40 mg/mL)	Conc. (μ g/mL)	Dog Plasma
0.1	35.3	34.0	60.8	1	41.0
1	38.2	46.8	61.4	5	39.6
10	36.4	73.4	62.0	25	49.5
20	38.7	86.6	67.0	100	64.6

(Source: PC-PSI-7977-11-0001, Table in results)

表 2.6.4- 9 GS-331007 の血漿タンパク結合率

GS-331007 Unbound %						
Conc. (μ g/mL)	Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Conc. (μ g/mL)	Human
1	95.8	95.9	97.7	96.9	0.1	92.8
5	92.9	98.0	97.3	98.0	1	92.9
25	91.6	97.1	96.1	95.0	10	96.9
100	94.5	100.3	89.3	98.7	20	96.9

(Source: PC-PSI-7977-11-0001, Table in results)

4.3. 胎盤通過及び乳汁移行

(試験番号 SA-PSI-7977-11-0008、添付資料 [4.2.2.3.3](#)、評価資料)

妊娠 13 日目、非妊娠及び分娩 2 日目の SD ラット（雌 1～3 匹／時点、体重：205.9～310.9 g）に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 μ Ci/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5% ポリソルベート 80/95%PEG 400 を用い、投与容量 4～5 mL/kg で投与した。妊娠 13 日目ラットでは投与後 1、4、8、24、48、72、96 及び 120 時間に、非妊娠ラットでは投与後 2、8、24 及び 168 時間に、分娩 2 日目ラットでは投与後 6、24、48、72、96、120 及び 168 時間に心採血し、QWBA に供した。授乳児ラットも QWBA に供した。また、投与後 1、6、24 及び 72 時間に血漿及び乳汁を採取した。全血、血漿及び乳汁中放射能は LSC にて測定した。各組織中濃度並びに血漿及び乳汁中濃度を [2.6.5.8 項](#) に示した。

単回経口投与後の放射能は妊娠、非妊娠及び分娩後ラットとともに速やかに吸収され、各組織に広範に分布した。放射能は胎盤を通過して羊水に移行し、胎児に吸収された。胎児の血液及び脳で、母体より高い放射能濃度が検出された。胎児の肝臓における濃度は妊娠母体の約 1/10 であり、胎児の腎臓に放射能は検出されなかった。

放射能濃度はいずれのラットでもほとんどの組織で、投与後 2～6 時間に C_{max} に達し、排泄系組織、消化管、胆汁、消化管内容物及び膀胱内容物において高い放射能が検出された。妊娠、非妊娠及び分娩後ラットの組織における T_{max} での濃度は、0.5～10 μ g equiv./g の範囲であった。 T_{max} での中枢神経系、骨組織、眼水晶体及び白色脂肪組織での放射能濃度は定量下限 (0.5 μ g equiv./g) 未満であった。

分娩後 2 日のラットから採取した乳汁中放射能濃度は定量可能であったが、授乳児ラットでの放射能濃度は低く、肝臓及び消化管内容物でのみ定量可能であった。以上のことから、放射能の授乳児ラットへの移行は比較的少なく、組織分布は少ないことが示された。雌ラットでの乳汁／血漿中放射能濃度比は、投与後 1 時間及び 24 時間で 0.1 及び 0.8 であった。一方、血液／血漿中濃度比は、投与後 1 時間及び 24 時間で 0.6 及び 1.1 であった。

5. 代謝（動物間の比較）

5.1. *In vivo*

5.1.1. マウス

（試験番号 PC-PSI-7977-11-0008、添付資料 4.2.2.4.1、評価資料）

CD-1 マウスでの [¹⁴C]-ソホスブビル単回経口投与後の尿及び糞中排泄を評価する試験（6.1 項）の一部として、血漿、尿及び糞中代謝物の検討を行った。

CD-1 マウス [第 1 群：雄 3 匹／時点（尿、糞、ケージ洗浄液及びカーカス採取）、第 2 群：雄 8 匹／時点（血漿採取）、体重：25～30 g] に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5% ポリソルベート 80/95%PEG 400 を用い、投与容量 4 mL/kg で投与した。投与後 0.25、1、2、4、8 及び 24 時間に採血し、血漿試料を得た。また、投与前並びに投与後 0～8、8～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間に尿を採取した。さらに、投与前並びに投与後 168 時間までの糞を 24 時間ごとに回収した。各試料を採取時点毎にプールし、LC/MS/RFD 法にて測定した。血漿、尿及び糞中に検出された主要代謝物の割合を 2.6.5.10A 項に示した。

血漿中及び尿中には GS-331007 及び GS-566500 が検出され、主要代謝物は GS-331007 であった。GS-331007 及び GS-566500 はそれぞれ血漿中総放射能の 86.5% 及び 13.5% を占めていた。尿中では、GS-331007 及び GS-566500 はそれぞれ投与量の 55.18% 及び 10.45% を占めていた。また、糞中には GS-331007 が投与量の 14.09% 検出された。血漿、尿及び糞中に未変化体は検出されなかった。

5.1.2. ラット

5.1.2.1. 血漿、尿、胆汁、肝臓及び糞中代謝物

（試験番号 CH-PSI-7977-09-0002、添付資料 4.2.2.4.2、評価資料）

胆管カニューレ挿入及び未処置ラット SD ラットでの [¹⁴C] ソホスブビル単回経口投与後の尿及び糞中排泄を評価する試験（6.2 項）の一部として、血漿、尿、胆汁、肝臓及び糞中代謝物の検討を行った。

胆管カニューレ挿入又は未処置 SD ラット（雄 3 匹／群、体重：246～282 g）に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5% ポリソルベート 80/95%PEG 400 を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。未処置ラットでは投与後 0.25、1、2、4、8 及び 24 時間に採血し、肝臓を摘出した。また、投与前並びに投与後 0～8、8～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間に尿を採取した。さらに、投与後 168 時間までの糞を 24 時間ごとに回収した。胆管カニューレ挿入ラットでは投与後 96 時間までの尿及び糞を回収した。胆汁は投与前並びに投与後 0～8、8～24、24～48、48～72、72～96 時間に採取した。各試料を採取時点毎にプールし、各試料中の代謝物を LC/MS/RFD 法にて測定した。血漿、尿、胆汁、肝臓

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

及び糞中に検出された主要代謝物の割合を [2.6.5.10B](#) 項に示した。

いずれの試料においてもソホスブビルは検出されなかった。血漿中の主要代謝物は GS-331007 で、血漿中総放射能の 84.2%を占めていた。次いで、GS-566500 が血漿中総放射能の 10.6%検出された。胆管カニューレ挿入ラット及び未処置ラットとともに尿中には主要代謝物として GS-331007 が投与量のそれぞれ 49.6%及び 61.1%検出された。次いで、GS-566500 が投与量の 13.5%及び 11.1%検出された。胆管カニューレ挿入ラットに [¹⁴C]ソホスブビル投与後の胆汁中には主要代謝物である GS-566500 が投与量の 5.5%検出された。胆管カニューレ挿入及び未処置ラットとともに糞中には GS-331007 のみが検出され、投与量の約 18%であった。また、未処置ラットの肝臓中には GS-331007、GS-566500 及び GS-606965 が検出された。

5.1.2.2. 妊娠ラットでの血漿及び乳汁中代謝物

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0009、添付資料 [4.2.2.4.3](#)、評価資料)

妊娠ラットでの [¹⁴C]ソホスブビル単回経口投与後の胎盤通過及び乳汁移行を評価する試験 (4.3 項) の一部として、血漿及び乳汁中代謝物の検討を行った。

妊娠 13 日目、非妊娠及び分娩 2 日目の SD ラット (雌 1 匹/時点、体重 : 205.9~310.9 g) に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80 / 95%PEG 400 を用い、投与容量 4~5 mL/kg で投与した。各試料を採取時点毎にプールし、LC/MS/RFD 法にて測定した。血漿及び乳汁中に検出された主要代謝物の割合を [2.6.5.10C](#) 項に示した。

血漿及び乳汁中には GS-331007、GS-566500 及び GS-331007 硫酸抱合体 (異性体を含む) が検出されたが、ソホスブビルは検出されなかった。血漿及び乳汁中主要代謝物は GS-331007 及びその硫酸抱合体であった。投与後 1 時間での GS-331007、GS-566500 及び GS-331007 硫酸抱合体の乳汁 / 血漿中濃度比はそれぞれ 0.246、0.071 及び 0.177 であった。

5.1.3. イヌ

(試験番号 CH-PSI-7977-09-0001、添付資料 [4.2.2.4.4](#)、評価資料)

イヌでの [¹⁴C]ソホスブビル単回経口投与後の尿及び糞中排泄を評価する試験 (6.3 項) の一部として、血漿、尿及び糞中代謝物の検討を行った。

イヌ (雄 3 匹/群、体重 : 10.36~10.45 kg) に [¹⁴C]ソホスブビルを 20 mg/kg (約 100 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80 / 95%PEG 400 を用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与後 0.5、1、2、4、8、12、24 及び 48 時間に採血し、血漿試料を得た。また、投与前並びに投与後 0~6、6~12、12~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 及び 144~168 時間に尿を、投与前並びに投与後 168 時間までの糞を 24 時間ごとに回収した。各試料を採取時点毎にプールし、LC/MS/RFD 法にて測定した。血漿、尿及び糞中に検出された主要代謝物の割合を [2.6.5.10D](#) 項に示した。

血漿中の主要代謝物は GS-331007 で、血漿中総放射能の 93.4%を占めた。次いで、GS-566500

が血漿中総放射能の 1.6%検出された。ソホスブビルは投与後 4 時間まで検出され、血漿中総放射能の 4.5%であった。尿中の主要代謝物は GS-331007 及び GS-566500 で、それぞれ投与量の 45.2% 及び 35.2% 検出された。糞中には GS-331007 が投与量の 1.7% 検出された。

5.1.4. 推定代謝経路

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0008、添付資料 4.2.2.4.1、評価資料)

(試験番号 CH-PSI-7977-09-0002、添付資料 4.2.2.4.2、評価資料)

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0009、添付資料 4.2.2.4.3、評価資料)

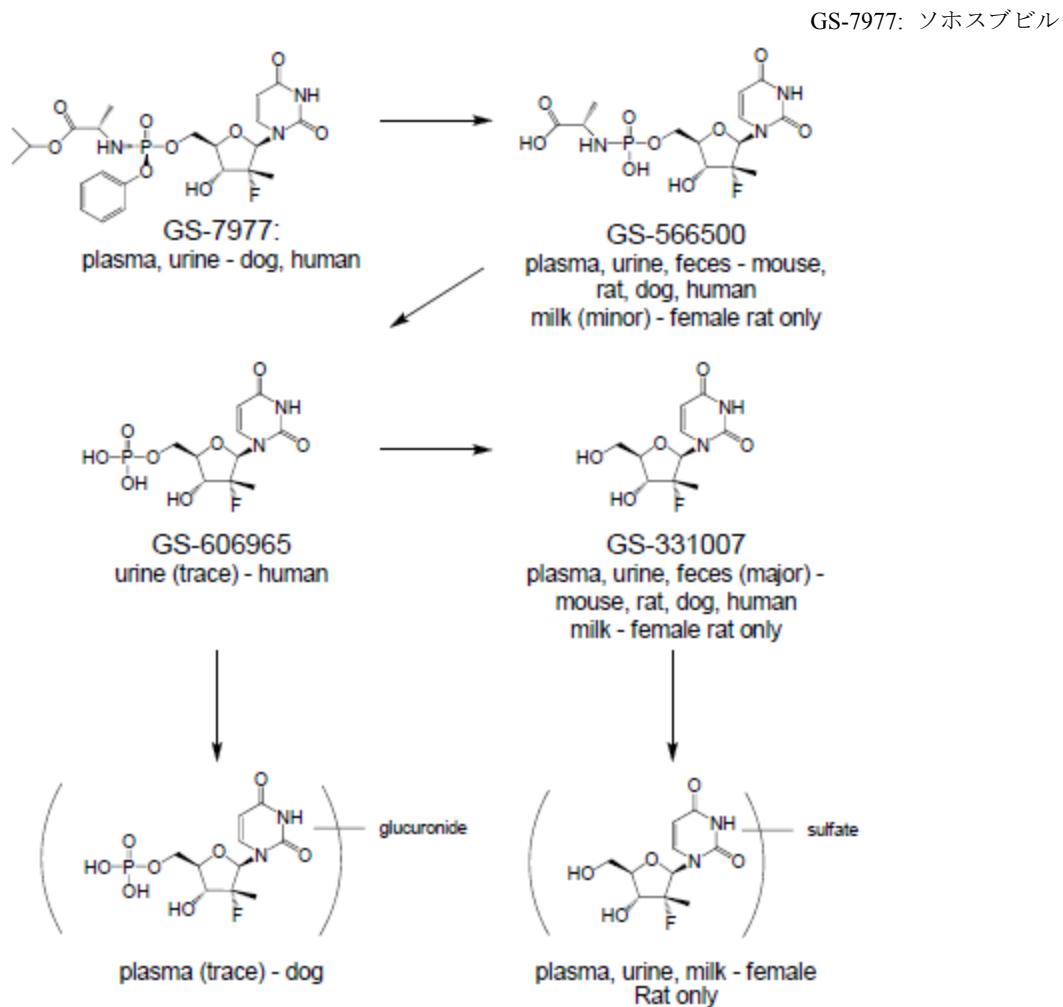
(試験番号 CH-PSI-7977-09-0001、添付資料 4.2.2.4.4、評価資料)

(試験番号 P7977-0312、添付資料 5.3.3.1.2、参考資料)

[¹⁴C]ソホスブビルを経口投与したマウス、ラット、イヌ及びヒト健康被験者での血漿、尿及び糞中代謝物プロファイルを評価した（試験番号 CH-PSI-7977-09-0001、CH-PSI-7977-09-0002、PC-PSI-7977-11-0008、P7977-0312）。推定代謝経路を図 2.6.4- 6 に示す。GS-331007 及び GS-566500 が全動物種の血漿、尿及び糞中で検出され、GS-331007 は血漿中全曝露量の 80% を上回った。ヒト尿に GS-606965 が、イヌ血漿中に GS-606965 のグルクロン酸抱合体がわずかに検出された。

雌の非妊娠、妊娠及び分娩後ラットの血漿並びに雌の分娩後ラット乳汁中の代謝物プロファイルを評価した（試験番号 PC-PSI-7977-11-0009）。非妊娠、妊娠及び分娩後ラット間で血漿中代謝物プロファイルに明らかな差は認められなかった。ソホスブビルはラットの血漿及び乳汁中に検出されず、GS-331007 及びその 2 つの硫酸抱合体が主代謝物としてラットの血漿及び乳汁中に検出された。また、ラットの血漿及び乳汁中には GS-566500 及び未同定代謝物も低濃度で検出された。

図 2.6.4-6 [¹⁴C]ソホスブビルを経口投与後の血漿、尿、糞及び乳汁中の推定代謝経路



5.2. *In vitro*

5.2.1. ヒト S9 分画、血漿及び血液中安定性

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0013、添付資料 4.2.2.4.5、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7977-09-0002、添付資料 4.2.2.4.6、評価資料)

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0015、添付資料 4.2.2.4.7、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0016、添付資料 4.2.2.4.8、参考資料)

ソホスブビル、GS-9851 及び GS-491241 のヒト肝 S9 分画、血漿及び血液中安定性を検討した。

ヒト肝 S9 分画又は血漿に GS-9851 を 100 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加し、37°C で 24 時間までインキュベートした。ヒト肝 S9 分画及び血漿中 GS-9851 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した（試験番号 PC-PSI-7851-08-0013）。ヒト肝 S9 分画及び血漿中での GS-9851 の $t_{1/2}$ はそれぞれ 0.39 時間及び 24 時間以上であった。

同様にヒト肝 S9 分画及び血漿にソホスブビル又は GS-491241 を 100 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加し、37°C で 24 時間までインキュベートした。ヒト肝 S9 分画又は血漿中ソホスブビル及び

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

GS-491241 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した（試験番号 PC-PSI-7977-09-0002）。ヒト肝 S9 分画中の $t_{1/2}$ はソホスブビル及び GS-491241 でそれぞれ 0.23 時間及び 0.47 時間であった。また、ヒト血漿中の $t_{1/2}$ はいずれの化合物でも 24 時間以上であった。

以上のように、ソホスブビル、GS-9851 及び GS-491241 は、ヒト血漿中では安定であり、ヒト肝 S9 分画中では極めて不安定であった。

また、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血液中での GS-9851 の安定性について検討した。ラット血液に GS-9851 を 50 ng/mL になるように添加し、室温でインキュベート後、アセトニトリル又は 0.5% ギ酸含有アセトニトリルで反応を停止した（試験番号 PC-PSI-7851-08-0015）。反応停止後の試料中 GS-9851 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。アセトニトリルによる反応停止では、インキュベート時間 0 分でも GS-9851 は検出されなかった。0.5% ギ酸含有アセトニトリルでは、インキュベート時間 0 分では GS-9851 は検出されたが、15 分では定量下限未満であった。また、マウス、イヌ、サル及びヒト血液に GS-9851 を 200 ng/mL になるように添加し、37°C でインキュベート後、0.5% ギ酸含有アセトニトリルで反応を停止した（試験番号 PC-PSI-7851-08-0016）。反応停止後の試料中 GS-9851 及び GS-331007 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。マウス血液では 15 分のインキュベートで GS-9851 は定量下限未満となつたが、イヌ、サル及びヒト血液では 60 分まで安定であった。

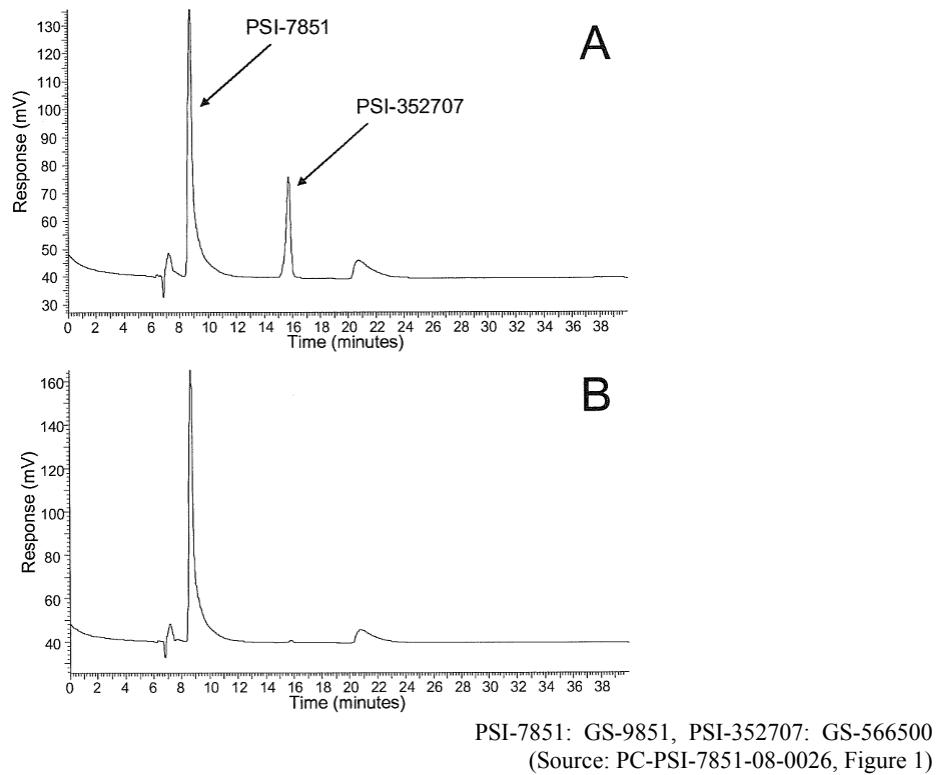
5.2.2. 細胞内活性化に関する酵素の検討

5.2.2.1. CatA の関与

（試験番号 PC-PSI-7851-08-0026、添付資料 4.2.2.4.9、参考資料）

ヒト CatA 発現系に GS-9851 を 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ になるように添加し、CatA 阻害剤である VX950（テラブレビル）の存在下及び非存在下、37°C で 1 時間インキュベートした。インキュベート後の試料中 GS-9851 及び GS-566500 を HPLC 法にて測定した。VX950 非存在下では、GS-566500 が検出されたが、VX950 存在下では GS-566500 は検出されなかつたことから、CatA が GS-9851 の加水分解に関与していることが示された（図 2.6.4-7）。

図 2.6.4- 7 GS-9851 をカテプシン A 発現系とインキュベートした後のクロマトグラム
(A : 阻害剤なし、B 阻害剤あり)

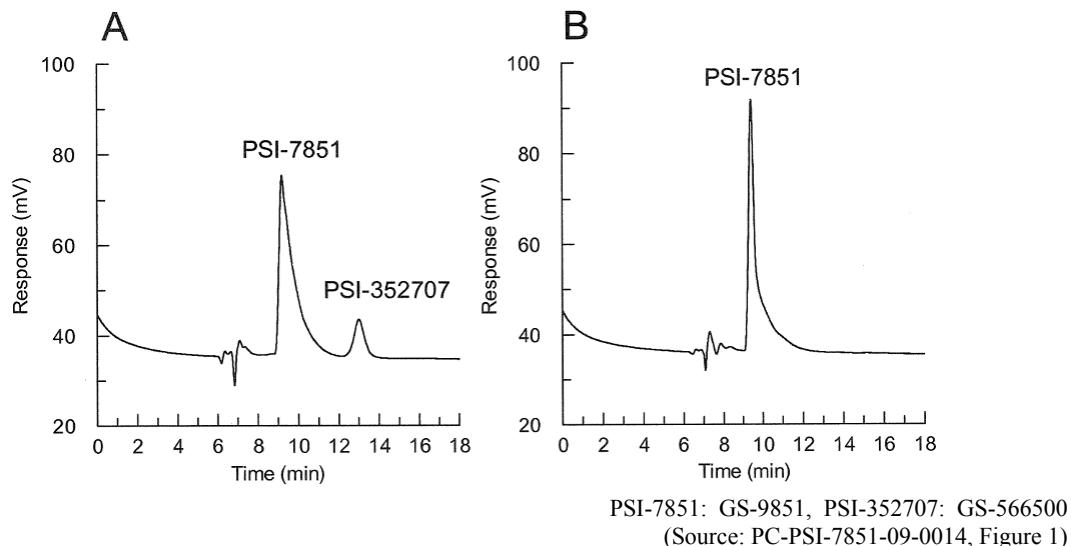


5.2.2.2 CES の関与

(試験番号 PC-PSI-7851-09-0014、添付資料 4.2.2.4.10、参考資料)

CES1 及び CES2 発現系に GS-9851 を $50 \mu\text{mol/L}$ になるように添加し、 37°C で 1 時間インキュベートした。インキュベート後の試料中 GS-9851 及び GS-566500 を HPLC 法にて測定した。CES1 では GS-566500 が検出されたが、CES2 では GS-566500 が検出されなかったことから、GS-9851 の加水分解への CES1 の関与が示された。（図 2.6.4- 8）

図 2.6.4-8 GS-9851 を CES1 及び CES2 発現系とインキュベートした後のクロマトグラム
(A : CES1、B : CES2)



5.2.2.3. CatA 及び CES の寄与

(試験番号 PC-PSI-7977-09-0001、添付資料 4.2.2.4.11、評価資料)

CatA 発現系及びヒト肝サイトゾルより精製した CES1 にソホスブビル又は GS-491241 を $100 \mu\text{mol/L}$ になるように添加し、 37°C で 60 分までインキュベートした。インキュベート後の試料中ソホスブビル、GS-491241 及び GS-566500 濃度を HPLC 法にて測定し、加水分解速度を算出した。CatA 発現系及び CES1 での各化合物の加水分解速度を 2.6.5.11G 項に示した。

CES1 による加水分解速度はソホスブビル及び GS-491241 ともに同じであったが、CatA による加水分解速度はソホスブビルが GS-491241 よりも 20 倍速かった。

また定量的逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応法 (RT-PCR) にてヒト初代肝細胞及び CloneA 細胞中の CatA 及び CES1 の発現を確認したところ、CatA はどちらの細胞にも発現していたが、CES1 は初代肝細胞でのみ発現していた。

5.2.2.4. Hint1 の関与

(試験番号 AD-334-2018、添付資料 4.2.2.4.12、評価資料)

中間代謝物である GS-566500 から GS-606965 への変換メカニズムを検討するために、ヒト Hint1 発現系を用いた検討を行った。

Hint1 発現系に GS-566500 を添加し、 37°C でインキュベート後の試料中 GS-566500 を HPLC 法で測定した。触媒効率 (K_{cat}/K_m) は $0.05 \text{ L}/\mu\text{mol}/\text{min}$ であった。また、CloneA 細胞、肝がん細胞、ヒト T 細胞リンパ芽球細胞及びヒト初代肝細胞中の Hint1 遺伝子の発現及びタンパク質量を定量的 RT-PCR 及びウェスタンプロットにて確認した。Hint1 遺伝子はいずれの細胞でも発現していたが、ヒト初代肝細胞でのタンパク質量は他の細胞に比べて高かった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

Huh7 細胞を siRNA で処理した Hint1 ノックダウン細胞に [³H]GS-9851 を添加後、37°C で 24 時間インキュベートし、細胞内代謝物を HPLC 法にて測定した。GS-566500 生成量は siRNA 未処理の Huh7 細胞に比べて 1.5 倍高かったことから、GS-566500 から GS-606965 への変換には Hint1 が関与していることが示された。

5.2.2.5. キナーゼの関与

(試験番号 AD-334-2019、添付資料 4.2.2.4.13、評価資料)

GS-606965 及び GS-607596 のリン酸化に関与するヒトウリジン二リン酸キナーゼ (UMP-CMPK) 及びヌクレオシド二リン酸キナーゼ (NDPK) の検討を行った。GS-606965 及び GS-607596 を Huh7 及び HepG2 細胞より複製したヒト UMP-CMPK 及び NDPK 並びにホスホエノールピルビン酸、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH)、ピルビン酸キナーゼ及び乳酸脱水素酵素を含む反応液中で 25°C で反応させ、340 nm での吸光度を測定した。UMP-CMPK 及び NDPK の特異的基質としてそれぞれ UMP 及びウリジン二リン酸 (UDP) を使用した。結果を 2.6.5.11I 項に示した。

UMP-CMPK 及び NDPK はそれぞれ GS-606965 及び GS-607596 のリン酸化に関与していることが示され、UMP-CMPK の GS-606965 に対する触媒効率は 0.0091 L/μmol/s であり、UMP の 1/60 であった。また、NDPK の GS-607596 に対する触媒効率は 0.046 L/μmol/s であり UDP の 1/20 であった。

5.2.2.6. 肝細胞での代謝

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0011、添付資料 4.2.2.4.14、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7851-08-00014、添付資料 4.2.2.4.15、参考資料)

(試験番号 AD-334-2017、添付資料 4.2.2.4.16、評価資料)

ラット、イヌ、サル及びヒト初代肝細胞に GS-9851 を 100 μmol/L になるように添加し、37°C で 72 時間までインキュベートし、試料中 GS-461203 濃度を LC/RFD 法にて測定した (試験番号 PC-PSI-7851-08-0011)。肝細胞中活性代謝物である GS-461203 の生成は、ラットで 4~8 時間、イヌで 24 時間及びサルで 48 時間後に最も高かった。ヒトでは、24 時間後に最高濃度を示し、検討した動物種の中で最も高い濃度を示した (図 2.6.4- 9)。

ヒト初代肝細胞に 5 μmol/L になるように [³H]GS-9851 を添加し、37°C で 72 時間までインキュベートした。インキュベート後の試料中 GS-9851 及び代謝物濃度を LC/RFD 法にて測定した (試験番号 PC-PSI-7851-08-00014)。24 時間後の細胞内には、GS-566500、GS-606965、GS-607596 及び GS-461203 の 4 代謝物が検出され、その中でも GS-461203 の生成が最も高かった。GS-566500 は 4 時間後に最高濃度を示した後、急激に減少した。GS-606965、GS-607596 及び GS-461203 は 4~5 時間後に最高濃度を示した後、48 時間後付近から減少した。4 時間後の主要代謝物は GS-566500、8 時間後の主要代謝物は GS-461203 であった (図 2.6.4- 10)。また、ヒト初代肝細胞に GS-9851 を

2.6.4 薬物動態試験の概要文

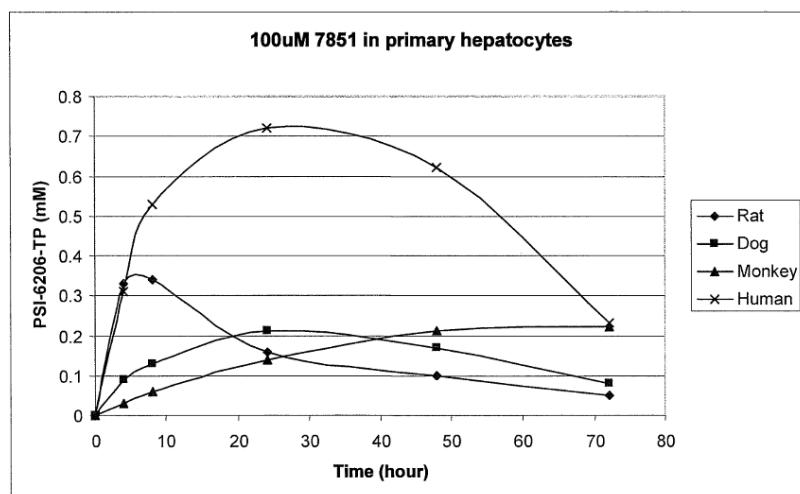
ソバルデイ[®]錠 400 mg

100 $\mu\text{mol/L}$ まで添加後、37°C で 24 時間インキュベートしたところ、50 $\mu\text{mol/L}$ までは GS-607596 及び GS-461023 の生成に飽和は見られなかった。

14 ドナー（男 6、女 8）のヒト初代肝細胞にソホスブビルを 1~10 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加し、37°C で 2 時間インキュベート後、ソホスブビル非添加のメディウム中で 24 時間までインキュベートした（試験番号 AD-334-2017）。インキュベート後の試料中 GS-606965、GS-607596、GS-461203 及び GS-566500 濃度を LC/MS/MS 法で測定した。

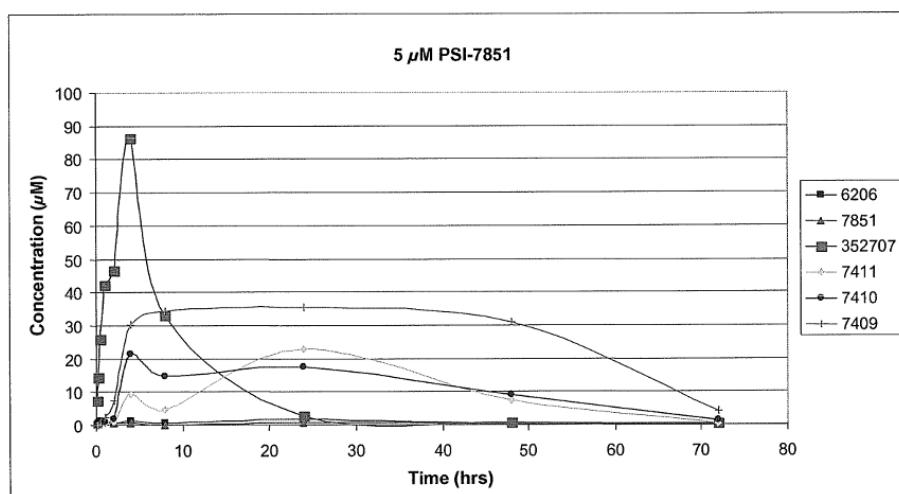
添加薬剤濃度を 1 $\mu\text{mol/L}$ に補正した細胞中 GS-461203 は 10.1 時間に最高濃度 19.0 pmol/10⁶ cell を示し、消失半減期は 12 時間より長いと考えられた。ヒト初代肝細胞でのソホスブビルの代謝はドナーの性別に依存しなかった。

図 2.6.4- 9 各肝細胞での GS-9851 の GS-461203 への活性化



7851: GS-9851, PSI-6206-TP: GS-461203
(Source: PC-PSI-7851-08-0011, Figure 1)

図 2.6.4- 10 ヒト肝細胞での GS-9851 の代謝



6206: GS-331007, 7851: GS-9851, 352707: GS-566500, 7411: GS-606965, 7410: GS-607596, 7409: GS-461203
(Source: PC-PSI-7851-08-00014, Figure 3)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

5.2.2.7. クローン A 細胞での代謝

(試験番号 PC-PSI-7851-08-0010、添付資料 4.2.2.4.17、参考資料)

クローン A 細胞に 5 $\mu\text{mol/L}$ になるように [³H]GS-9851 を添加し、37°C で 72 時間までインキュベートした。インキュベート後の細胞中 GS-9851 及び代謝物濃度を LC/RFD 法にて測定した。

GS-9851 はヌクレオシド誘導体一リン酸アラニン (GS-566500) 並びにヌクレオシド誘導体一リン酸 (GS-606965)、ヌクレオシド誘導体二リン酸 (GS-607596) 及びヌクレオシド誘導体三リン酸 (GS-461203) に代謝された。これらのリン酸化体の生成は 48 時間後に最高濃度を示し、GS-461203 の生成量は、GS-606965 及び GS-607596 の生成量より高かった。

5.2.2.8. ヒト末梢血単核球細胞 (PBMC) 及び肝細胞での代謝の比較

(試験番号 PC-PSI-7851-09-0003、添付資料 4.2.2.4.18、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0004、添付資料 4.2.2.4.19、評価資料)

ヒト PBMC に 5 $\mu\text{mol/L}$ になるように [³H]GS-9851 を添加し、37°C で 72 時間までインキュベートした。試験は p-アミノ馬尿酸 (PHA-P) による刺激の存在下及び非存在下で行った (試験番号 PC-PSI-7851-09-0003)。細胞中 GS-9851 及び代謝物濃度は LC/RFD 法にて測定した。24 時間後の細胞内には GS-566500、GS-607596 及び GS-461203 の 3 代謝物の生成が認められ、PHA-P による刺激の有無による違いはみられなかった。GS-9851 は速やかに GS-566500 に代謝された。GS-566500 は 8 時間後にプラトーに達し、GS-461203 は 24 時間後に最高濃度に達した。GS-607596 及び GS-331007 濃度は非常に低かったが、時間とともに増加した。GS-606965 は検出されなかった。

ヒト初代肝細胞及びヒト PBMC (PHA-P による刺激存在下及び非存在下) に 5 $\mu\text{mol/L}$ になるように [¹⁴C] ソホスブビルを添加し、37°C で 48 時間までインキュベートした (試験番号 PC-PSI-7977-11-0004)。細胞中 GS-9851 及び代謝物濃度は LC/RFD 法にて測定した。ヒト初代肝細胞では 48 時間後に GS-331007、GS-566500、GS-606965、GS-607596 及び GS-461203 が検出され、主要代謝物は GS-461203 であった。ヒト PBMC では、48 時間後に GS-566500 及び GS-461203 が検出され、PHA-P の刺激の有無による差はみられなかった。GS-461203 はヒト PBMC よりもヒト初代肝細胞で多く検出され、GS-566500 はヒト PBMC でヒト初代肝細胞よりも多く検出されたことから、ヒト PBMC では GS-566500 から GS-606965 への代謝が律速であることが示された。

5.2.3. 代謝安定性

(試験番号 SA-PSI-7977-09-0004、添付資料 4.2.2.4.20、評価資料)

ヒト肝ミクロソーム又はリン酸緩衝液にソホスブビル、GS-566500、GS-606965 及び GS-331007 を 2 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加し、37°C で 60 分までインキュベートした。インキュベート後の試料中ソホスブビル及び代謝物濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。

60 分インキュベート後のソホスブビルの残存率は 27% で、CYP 阻害剤である 1-アミノベンゾト

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

リアゾール (ABT) の添加により残存率が 46%に増加したことから、ソホスブビルの代謝への CYP の関与が示唆された。不活化処理及び UDPGA 添加によるソホスブビルの残存率に変化がみられなかったことから、ソホスブビルの代謝に FMO 及び UGT の関与は少ないものと考えられた。

GS-566500 については、ヒト肝ミクロソームとのインキュベートで明らかな残存率の減少はみられなかった。ABT 及び UDPGA 添加による残存率の変化もみられなかった。なお、不活化により残存率の増加がみられた。

GS-606965 については、ヒト肝ミクロソーム添加による残存率の減少はみられず、ABT 添加及び不活化による残存率の変化もみられなかった。なお、UDPGA 添加により、60 分での残存率が約 70%に低下したことから GS-606965 の消失にはグルクロロン酸転移酵素の軽度の関与が示唆された。

GS-331007 については、ヒト肝ミクロソーム添加の有無による明らかな残存率の減少はみられなかった。不活化並びに ABT 及び UDPGA 添加による残存率の変化もみられなかった。

5.2.4. 代謝に関与する CYP 分子種の同定

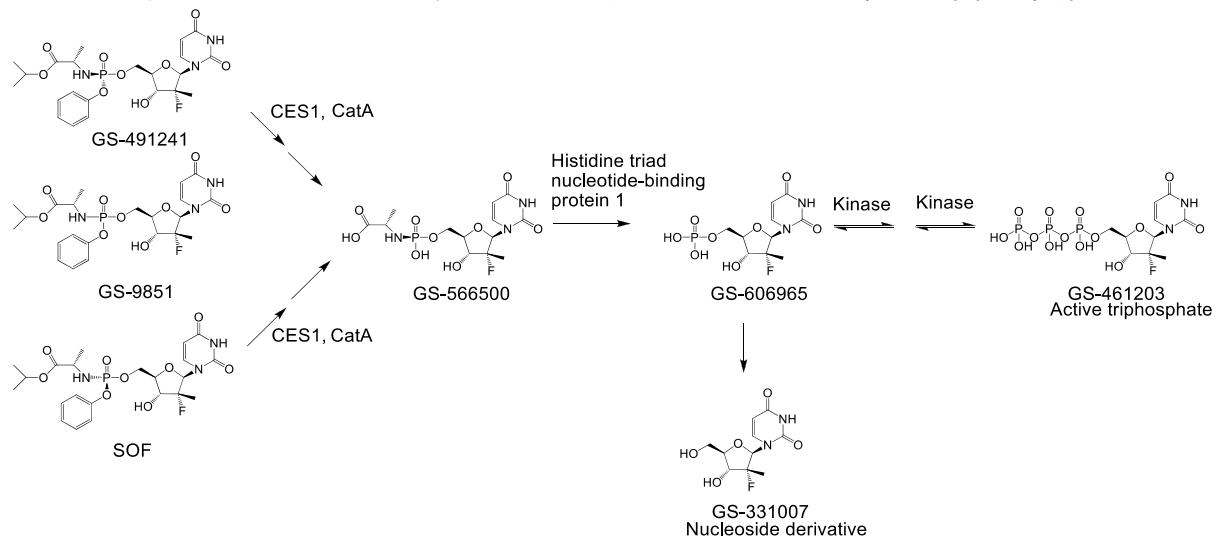
(試験番号 AD-334-2015、添付資料 4.2.2.4.21、評価資料)

ヒト CYP 発現系 (CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4) にソホスブビル又は GS-331007 を 5 μ mol/L になるように添加して 37°C で 45 分までインキュベートした。インキュベート後の試料中ソホスブビル及び GS-331007 濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。いずれの化合物ともに CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 の基質ではなかった。

5.2.5. 細胞内活性化経路

推定細胞内活性化経路を図 2.6.4- 11 に示す。ソホスブビル及び GS-491241 は、肝細胞内で (i) CES1 及び CatA を介した加水分解の結果としてのイソプロパノールの放出、(ii) フェノール放出過程を経て Hint1 によるリン酸アミドの開裂に伴うアラニンの放出、さらに (iii) UMP-CMPK 及び NDPK による GS-461203 への変換、という代謝経路で活性代謝物である GS-461203 へ代謝される。GS-606965 の脱リン酸化により、ヌクレオシド誘導体である GS-331007 に代謝されるが、*in vitro* では GS-331007 に抗 HCV 活性はみられず (2.6.2.2.7 項)、GS-331007 は再リン酸化もされないと考えられた。

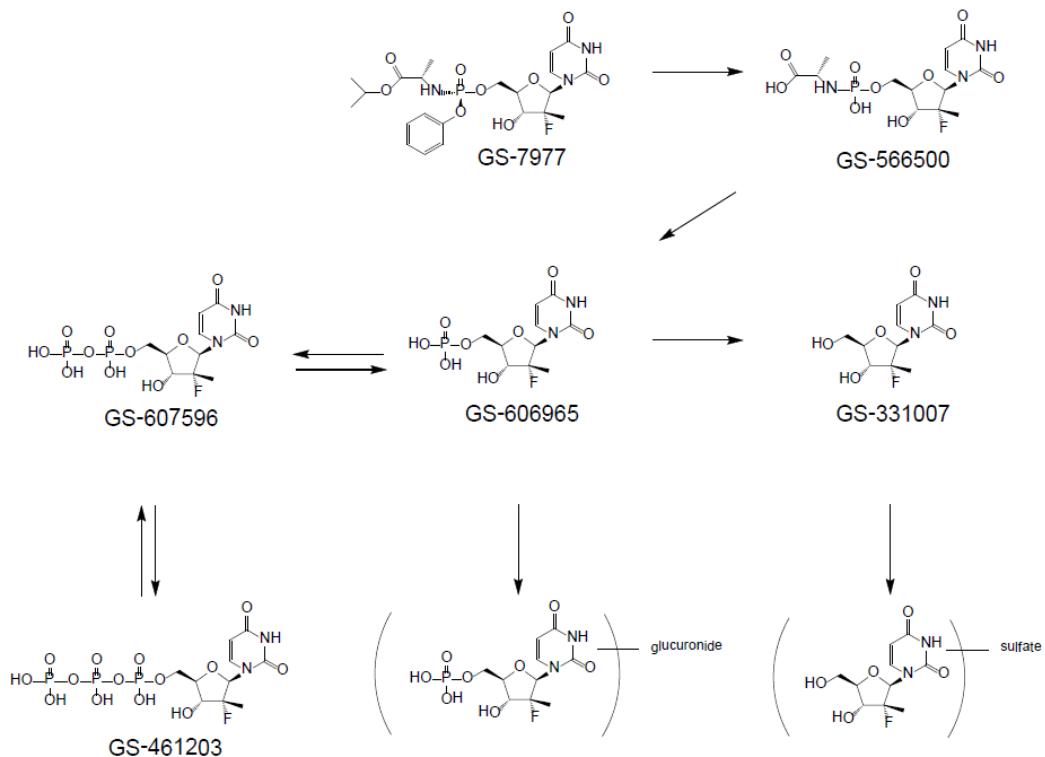
図 2.6.4-11 GS-9851、GS-491241 及びソホスブビルの細胞内活性化経路



5.3. 細胞内活性化経路を含む推定代謝経路

In vivo 及び *in vitro* 試験の結果から推定される細胞内活性化経路を含む推定代謝経路を図 2.6.4-12 に示す。

図 2.6.4-12 細胞内活性化経路を含む推定代謝経路



6. 排泄

6.1. マウス

(試験番号 SA-PSI-7977-11-0007、添付資料 [4.2.2.5.1](#)、評価資料)

CD-1 マウス [雄 3 匹／時点 (尿、糞、ケージ洗浄液及びカーカス採取)、体重 : 25~30 g] に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 µCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80 / 95%PEG 400 を用い、投与容量 4 mL/kg で投与した。また、投与前並びに投与後 0~8、8~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 及び 144~168 時間に尿を、投与前並びに投与後 0~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 及び 144~168 時間に糞を回収した。また、ケージ洗浄液は投与後 24 時間から 24 時間ごとに 168 時間まで回収した。尿、糞及びケージ洗浄液中放射能濃度は LSC にて測定した。尿及び糞中排泄率を [2.6.5.14A](#) 項に示した。

放射能の尿及び糞中排泄率はそれぞれ投与量の 65.6% 及び 14.2% であり、投与された放射能の大部分が尿中に排泄されることが示された。なお、投与後 8 時間までに投与量の 40% 超が尿中に排泄され、投与後 168 時間までの放射能総回収率は投与量の 85.4% であった。

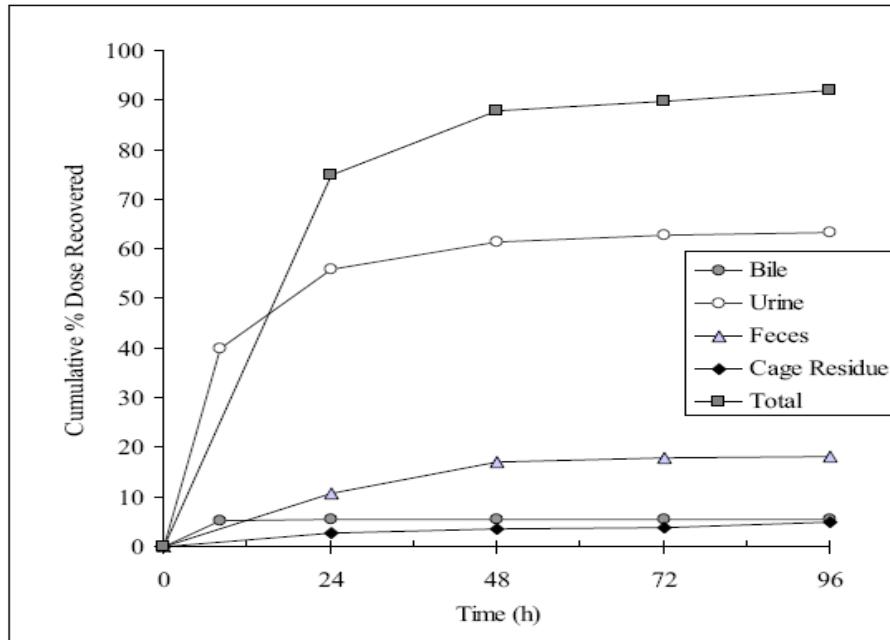
6.2. ラット

(試験番号 SA-PSI-7977-09-0003、添付資料 [4.2.2.5.2](#)、評価資料)

胆管カニューレ挿入又は未処置 SD ラット (雄 3 匹／群、体重 : 246~282 g) に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 mg/kg (200 µCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80 / 95%PEG 400 を用い、投与容量 10 mL/kg で投与した。投与前並びに投与後 0~8、8~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 及び 144~168 時間に尿を、投与前並びに投与後 0~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 及び 144~168 時間に糞を回収した。なお、胆管カニューレ挿入ラットでの尿及び糞の採取時間は 96 時間までとした。胆汁は投与後 0~8、8~24、24~48、48~72 及び 72~96 時間に回収した。ケージ洗浄液は 24 時間ごとに、胆管カニューレ挿入ラット及び未処理ラットでそれぞれ投与後 96 及び 168 時間まで回収した。また、24 時間ごとに 72 時間までの呼気中放射能も測定した。尿、糞、呼気及びケージ洗浄液中放射能濃度は LSC にて測定した。胆管カニューレ挿入ラットの累積排泄率を [図 2.6.4- 13](#) に示した。また、各排泄率を [2.6.5.14B](#) 項に示した。

[¹⁴C] ソホスブビル経口投与後の放射能の主要排泄経路は尿中であり、尿中排泄率は未処置ラットでは投与量の約 72%、胆管カニューレ挿入ラットでは投与量の約 63% であった。投与量の約 18% は糞中に回収された。胆管カニューレ挿入ラットの結果から、投与量の約 6% が胆汁中に排泄されることが示された。放射能総回収率は、投与量の 92%~95% であった。放射能の呼気中排泄率は投与量の 1% 未満であった。

図 2.6.4- 13 胆管カニューレ挿入ラットでの^{[14]C}ソホスブビル 20 mg/kg 単回経口投与後の累積排泄率



(Source: SA-PSI-7977-09-0003, Figure 2)

6.3. イヌ

(試験番号 SA-PSI-7977-10-0002、添付資料 4.2.2.5.3、評価資料)

イヌ（雄 3 匹／群、体重：10.36～10.45 kg）に^{[14]C}ソホスブビルを 22.01 mg/kg (75.2 μCi/kg) で単回経口投与した。投与媒体には 5%ポリソルベート 80/95%PEG 400 用い、投与容量 5 mL/kg で投与した。投与前並びに投与後 0～6、6～12、12～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間に尿を、投与前並びに投与後 0～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間に糞を回収した。ケージ洗浄液は 24 時間ごとに 168 時間まで採取した。尿、糞及びケージ洗浄液中放射能濃度は LSC にて測定した。尿及び糞中排泄率を 2.6.5.14C 項に示した。

^{[14]C}ソホスブビル経口投与後の放射能の主要排泄経路は尿中であり、投与量の 80.73%が尿中に排泄された。糞中排泄率は投与量の 1.80%であった。なお、尿中には投与 24 時間後までに投与量の 72.22%が排泄された。放射能総回収率は 96.71%であった。

7. 薬物相互作用

ソホスブビルと他剤との薬物相互作用の可能性について *in vitro* 試験で検討した。ソホスブビル又は代謝物による CYP 酵素の阻害／誘導の可能性並びに各種トランスポーターの基質／阻害剤となる可能性を検討した。さらに、ソホスブビルとの併用が考えられる抗 HCV 薬を含む他剤によるソホスブビルの吸収過程及び細胞内活性化過程への影響についても検討した。

7.1. CYP を介した相互作用

7.1.1. ソホスブビル、GS-9851 及び代謝物による CYP 阻害

(試験番号 PC-PSI-7977-09-0011、添付資料 4.2.2.6.1、参考資料)

(試験番号 PC-PSI-7851-09-0009、添付資料 4.2.2.6.2、参考資料)

(試験番号 AD-334-2020、添付資料 4.2.2.6.3、評価資料)

ソホスブビル、GS-9851、GS-607596、GS-606965、GS-566500、GS-461203 及び GS-331007 による CYP の阻害をヒト CYP 発現系及びヒト肝ミクロソームを用いて検討した。

ソホスブビルを各 CYP 酵素 (CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4) に 10 $\mu\text{mol/L}$ 及び 50 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加してインキュベートした (試験番号 PC-PSI-7977-09-0011)。陽性対照には各 CYP の特異的阻害剤を用いた (CYP1A2 : フラフィリン、CYP2C8 : クエルセチン、CYP2C9 : スルファフェナゾール、CYP2C19 : トランニルシプロミン、CYP2D6 : キニジン、CYP3A4 : ケトコナゾール)。その結果、50 $\mu\text{mol/L}$ のソホスブビルで CYP3A4 に対して最大の阻害を示したが、阻害率は 21.6% であったことから、ソホスブビルはほとんど CYP を阻害しないと考えられた。

GS-9851 及び各代謝物をヒト CYP 発現系 (CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4) に 0.05~100 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加してインキュベートし、各 CYP 基質に対する阻害作用を検討した (試験番号 PC-PSI-7851-09-0009)。なお、特異的阻害剤としては上記と同様の阻害剤を使用した。その結果、いずれの CYP 分子種に対しても IC₅₀ は 100 $\mu\text{mol/L}$ 超であった。また、ソホスブビル (100 $\mu\text{mol/L}$ まで) 及び GS-331007 (300 $\mu\text{mol/L}$ まで) をヒト肝ミクロソームに添加し、CYP 特異的基質 (CYP1A2 : フェナセチン、CYP2B6 : ブプロピオン、CYP2C8 : パクリタキセル、CYP2C9 : トルブタミド、CYP2C19 : S-メフェニトイン、CYP2D6 : デキストロメトルファン、CYP3A : ミダゾラム及びテストステロン) に対する阻害作用を検討した (試験番号 AD-334-2020)。ミクロソーム中の各基質の代謝物濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。ソホスブビル及び GS-331007 による CYP 阻害の結果を表 2.6.4- 10 に示す。

ソホスブビル及び GS-331007 の各 CYP 分子種に対する IC₅₀ はそれぞれ 100 $\mu\text{mol/L}$ 及び 300 $\mu\text{mol/L}$ 超であった。なお、CYP3A の基質にミダゾラムを用いた時のソホスブビルの IC₅₀ は 53.1 $\mu\text{mol/L}$ であった。また、ソホスブビルは CYP3A に対して時間依存的な阻害を示さなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルデイ[®]錠 400 mg

表 2.6.4-10 ソホスブビル及び GS-331007 による CYP 分子種阻害

Enzyme	Activity	Calculated IC ₅₀ (μmol/L) ^a		
		Control Inhibitor ^b	Sofosbuvir	GS-331007
CYP1A2	Phenacetin-O-deethylase	0.07	> 100	> 300
CYP2B6	Bupropion-4-hydroxylase	0.56	> 100	> 300
CYP2C8	Paclitaxel-6α-hydroxylase	1.2	> 100	> 300
CYP2C9	Tolbutamide-4-hydroxylase	0.44	> 100	> 300
CYP2C19	S-Mephenytoin-4'-hydroxylase	9.7	> 100	> 300
CYP2D6	Dextromethorphan-O-demethylase	0.04	> 100	> 300
CYP3A	Midazolam-1'-hydroxylase	0.07	53.1	> 300
CYP3A	Testosterone-6β-hydroxylase	0.30	> 100	> 300

a: Values are the mean of n = 6.

b: Control Inhibitors: CYP1A2, α-Naphthoflavone (0–3 μmol/L); CYP2B6, Ticlopidine (0–25 μmol/L); CYP2C8, Montelukast (0–3 μmol/L); CYP2C9, Sulfaphenazole (0–10 μmol/L); CYP2C19, Tranylcypromine (0–50 μmol/L); CYP2D6, Quinidine (0–3 μmol/L); CYP3A, Ketoconazole (0–3 μmol/L).

(Source: AD-334-2020, Table 1)

7.1.2. ソホスブビル代謝の CYP 阻害剤及び他の抗 HCV 薬による阻害

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0002、添付資料 4.2.2.6.4、参考資料)

(試験番号 AD-334-2010、添付資料 4.2.2.6.5、評価資料)

2 ドナーから採取したヒト初代肝細胞に [¹⁴C] ソホスブビルを 5 μmol/L 及び BMS790052 (Daclatasvir: 非構造タンパク質 5A [NS5A] 阻害剤) を (ドナー1: 0~10 μmol/L、ドナー2: 0~50 μmol/L) となるように添加し、37°C で 4 時間インキュベートした (試験番号 PC-PSI-7977-11-0002)。インキュベート後の肝細胞中ソホスブビル及び代謝物濃度は LC/RFD 法にて測定した。50 μmol/L までの BMS790052 は、GS-461203 生成に影響を与えたなかった。

ヒト初代肝細胞にソホスブビルを添加し、各 CYP 阻害剤及び抗 HCV 薬による GS-461203 生成に対する阻害を検討した (試験番号 AD-334-2010)。ヒト初代肝細胞を 30 分間インキュベート後、ソホスブビルを 10 μmol/L 単独並びに各 CYP 阻害剤又は抗 HCV 薬と併用で 2 時間インキュベートした。インキュベート後の試料中ソホスブビル及び代謝物濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。CYP 阻害剤として 5 μmol/L リトナビル及び 10 μmol/L ケトコナゾール、抗 HCV 薬として 10 μmol/L GS-5885 (レジパスビル、[NS5A 阻害剤])、GS-9451 (プロテアーゼ阻害剤)、GS-9190 (Tegobuvir: 非ヌクレオシド阻害剤 [NNI])、GS-5816 (NS5A 阻害剤)、GS-9669 (NNI) を用いた。コントロール及び各阻害剤添加時の GS-461203 生成量はそれぞれ 69.8 pmol/10⁶ cell 及び 49.7~60.2 pmol/10⁶ cell であり、各阻害剤の GS-461203 生成への影響は認められなかった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

7.1.3. ソホスブビルの肝酵素誘導作用

(試験番号 PC-PSI-7977-10-0005、添付資料 4.2.2.6.6、評価資料)

ヒト初代肝細胞にソホスブビルを 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ になるように添加し、ソホスブビルの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4/5 に対する酵素誘導作用を評価した。

3 ドナーの肝臓から採取したヒト初代肝細胞を 1 日 1 回 3 日間、DMSO (0.1% v/v、溶媒対照)、ソホスブビル (1、10、100 $\mu\text{mol/L}$)、又は CYP 誘導剤 (陽性対照) で処理した。CYP 誘導剤にはオメプラゾール (100 $\mu\text{mol/L}$)、フェノバルビタール (750 $\mu\text{mol/L}$) 及びリファンピン (10 $\mu\text{mol/L}$) を用いた。処理後の細胞からミクロソームを調製し、各 CYP 基質に対する酵素活性 (CYP1A2 : フェナセチン O-脱アルキル化、CYP2B6 : ブプロピオン水酸化、CYP3A4/5 : テストステロン 6 β -水酸化) を LC/MS/MS 法にて測定した。同一処理群の別の肝細胞をトリアゾールで処理し、RNA を分離した。定量的 RT-PCR により RNA を分析し、ソホスブビルによる CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA レベルに対する影響を評価した。結果を表 2.6.4- 11 及び 2.6.5.16F 項に示す。ソホスブビルは CYP1A2 及び CYP3A4/5 の活性に影響を与えたが、CYP2B6 の活性は溶媒対照に対して 2.7 倍上昇した。また、mRNA は CYP1A2 では影響はみられなかったが、CYP2B6 で 2.04 倍、CYP3A4/5 で 2.73 倍の上昇がみられた。しかし、これらの上昇は各陽性対照の 15%未満であった。

表 2.6.4- 11 ソホスブビルの肝酵素誘導作用

Sofosbuvir Concentration	Percent Increase Relative to Positive Control ^a					
	mRNA			Activity ^b		
	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A
1 $\mu\text{mol/L}$	0.107	4.43	2.26	0.135	0.269	1.22
10 $\mu\text{mol/L}$	0.352	6.56	3.78	0.0448	2.03	3.04
100 $\mu\text{mol/L}$	0.182	7.10	13.9	0.187	11.7	2.15

a: Percent increase relative to positive controls 100 $\mu\text{mol/L}$ omeprazole (203-fold and 30.4-fold for mRNA and activity, respectively), 750 $\mu\text{mol/L}$ phenobarbital (14.7- and 18.1-fold for mRNA and activity, respectively), and 10 $\mu\text{mol/L}$ Rifampin (14.0- and 6.87-fold for mRNA and activity, respectively) for CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A, respectively.

b: Phenacetin, bupropion, and testosterone were used as probe substrates for CYP1A2, 2B6, and 3A, respectively.

(Source: PC-PSI-7977-10-0005, Table 5 and Table 7)

7.2. UGT1A1 を介した相互作用

(試験番号 AD-334-2013、添付資料 4.2.2.6.7、評価資料)

(試験番号 AD-334-2022、添付資料 4.2.2.6.8、評価資料)

ソホスブビル、GS-331007 及び GS-606965 の UGT1A1 への阻害作用をヒト UGT1A1 発現系及びヒト肝ミクロソームを用いて評価した。

各化合物を 0.4~100 $\mu\text{mol/L}$ になるようにヒト UGT1A1 発現系に添加し、37°C で 30 分インキュベートした (試験番号 AD-334-2013)。UGT1A1 の基質には 10 $\mu\text{mol/L}$ エストラジオールを用い、エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体の生成に対する阻害作用を検討した。インキュベーショ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

ン後の試料中エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。陽性対照としてアタザナビル及びシリビンを用いた。その結果、ソホスブビル、GS-606965 及び GS-331007 の IC₅₀ はいずれも 50 μmol/L 超であった。

また、ヒト肝ミクロソームに各化合物（300 μmol/L まで）を添加後、37°C で 30 分インキュベートし、エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体生成に対する阻害作用を検討した（試験番号 AD-334-2022）。インキュベーション後の試料中エストラジオール-3-グルクロン酸抱合体濃度は LC/MS/MS 法にて測定した。陽性対照としてアタザナビルを用いた。結果を表 2.6.4- 12 に示す。ソホスブビルの UGT1A1 に対する IC₅₀ は 198 μmol/L、GS-606965 及び GS-330117 の UGT1A1 に対する IC₅₀ はいずれも 300 μmol/L 超であった。

表 2.6.4- 12 ソホスブビル、GS-606965 及び GS-331007 のヒト肝ミクロソーム UGT1A1 に対する阻害作用

	Maximum inhibition at highest concentration tested (concentration)	IC ₅₀ (μmol/L) ^a
Sofosbuvir	59.1% (300 μmol/L)	198
GS-606965	-	> 300
GS-331007	-	> 300
Atazanavir	93.2%	0.52

a: Values are the mean of n = 2.

(Source: AD-334-2022, Appendix Table 1)

7.3. 薬物トランスポーターを介した相互作用

7.3.1. P-gp

(試験番号 █ 8215026、添付資料 4.2.2.6.9、評価資料)

(試験番号 AD-334-2002、添付資料 4.2.2.6.10、評価資料)

Caco-2 単層膜細胞に [¹⁴C]ソホスブビル又は [¹⁴C]GS-331007 を 1、10、100 μmol/L になるように添加し、apical 側から basolateral 側（Forward）及び basolateral 側から apical 側（Reverse）へのみかけの膜透過係数（Papp : cm/s）を算出した（試験番号 █ 8215026）。また、P-gp の阻害剤であるベラパミル（100 μmol/L）及びシクロスボリン A（10 μmol/L）存在下での各膜透過係数を算出した。膜透過係数より efflux ratio (RE = Reverse/Forward) を算出した。

[¹⁴C]ソホスブビル 10 μmol/L で 1 時間インキュベーション時の efflux ratio は、阻害剤非存在下での 12.4 からベラパミル及びシクロスボリン A 存在下でそれぞれ 3.66 及び 4.66 に低下したことから、ソホスブビルが P-gp の基質であることが示唆された。また、 [¹⁴C]GS-331007 の efflux ratio は、阻害剤非存在下での 4 時間インキュベートで最大値でも 2.63、ベラパミル及びシクロスボリン A 存在下で顕著な変化がみられなかったことから、GS-331007 は P-gp の基質ではないことが示された。

さらにソホスブビル及び GS-331007 の P-gp に対する阻害作用を [³H]ジゴキシンの Caco-2 膜透過

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

性で評価した。Caco-2 単層膜細胞に [³H]ジゴキシンを 1 μmol/L、ソホスブビル又は GS-331007 を 0.2～100 μmol/L で添加し、阻害作用を検討したところ、いずれの化合物ともに P-gp への阻害作用はみられなかった。

抗 HCV 薬によるソホスブビルの膜透過に対する阻害についても検討した（試験番号 AD-334-2002）。Caco-2 単層膜細胞にソホスブビル 10 μmol/L 及び各抗 HCV 薬（GS-5816: 1 μmol/L、レジパスビル：1 μmol/L、GS-9190：10 μmol/L、GS-9451：30 μmol/L 及び GS-9669：100 μmol/L）を添加して評価した。各抗 HCV 薬の濃度は消化管での溶解性を考慮して設定した。また、P-gp の阻害剤としてシクロスボリン A 10 μmol/L を用いた。結果を表 2.6.4- 13 に示す。レジパスビル、GS-9190 及び GS-9669 の添加によりソホスブビルの efflux ratio は約 1/2、GS-5816 添加により 1/4 に低下した。GS-9451 による阻害は、典型的な阻害剤であるシクロスボリン A と同程度であり、完全に阻害した。これらの結果から、検討した抗 HCV 薬は、消化管において P-gp を阻害することにより、ソホスブビルの吸収を上昇させる可能性があると考えられた。

表 2.6.4- 13 Caco-2 単層膜細胞を用いた抗 HCV 薬によるソホスブビル膜透過への影響

Direction	Inhibitor	Papp (10 ⁻⁶ cm/s)					Efflux Ratio
		R1	R2	R3	R4	Average	
Forward	None	0.30	0.26	0.23	0.21	0.25	43.6
Reverse		10.8	10.8	9.61	12.3	10.9	
Forward	Cyclosporin A (10 μmol/L)	0.30	0.27	0.65	0.62	0.46	1.4
Reverse		0.37	0.53	0.85	0.82	0.64	
Forward	GS-5816 (1 μmol/L)	0.73	0.60	ND	ND	0.66	11.2
Reverse		7.22	7.56	ND	ND	7.39	
Forward	GS-5885 (1 μmol/L)	0.21	0.49	ND	ND	0.35	22.9
Reverse		7.43	8.78	ND	ND	8.10	
Forward	GS-9190 (10 μmol/L)	0.46	0.92	ND	ND	0.69	16.1
Reverse		10.5	11.7	ND	ND	11.1	
Forward	GS-9451 (30 μmol/L)	0.78	1.41	ND	ND	1.09	1.1
Reverse		1.08	1.25	ND	ND	1.17	
Forward	GS-9669 (100 μmol/L)	ND	ND	0.31	0.28	0.30	23.4
Reverse		ND	ND	7.05	6.82	6.93	

GS-5885: Ledipasvir, ND: Not determined, Papp: Apparent permeability coefficient

Note: Sofosbuvir was incubated at 10 μmol/L.

(Source: AD-334-2002, Table 1)

7.3.2. BCRP、MRP2、OATP、OAT1、OAT3、OCT1、BSEP

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0006、添付資料 4.2.2.6.11、評価資料)

(試験番号 AD-334-2016、添付資料 4.2.2.6.12、評価資料)

(試験番号 PC-PSI-7977-11-0007、添付資料 4.2.2.6.13、評価資料)

(試験番号 AD-334-2004、添付資料 4.2.2.6.14、評価資料)

(試験番号 AD-334-2021、添付資料 4.2.2.6.15、評価資料)

(試験番号 AD-334-2005、添付資料 4.2.2.6.16、評価資料)

BCRP を発現させたイヌ腎臓尿細管上皮細胞 II (MDCKII-BCRP 発現細胞) 及び非発現 MDCKII 細胞に [¹⁴C] ソホスブビル又は [¹⁴C]GS-331007 を 3、10、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ になるように添加し、apical 側から basolateral 側 (Forward) 及び basolateral 側から apical 側 (Reverse) へのみかけの膜透過係数 (Papp : cm/s) を算出した (試験番号 PC-PSI-7977-11-0006)。また、BCRP の阻害剤である Ko134 (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 存在下での [¹⁴C] ソホスブビル 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ の膜透過係数を算出した。膜透過係数より efflux ratio (Reverse/Forward) を算出した。

MDCKII-BCRP 発現細胞で [¹⁴C] ソホスブビル及び [¹⁴C]GS-331007 の efflux ratio は 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ でそれぞれ 3.33 及び 1.74、非発現 MDCKII 細胞で 0.96 及び 0.30 であった。また、MDCKII-BCRP 発現細胞でのソホスブビルの efflux ratio は 2.17 から Ko134 存在下で 0.72 に低下した。以上のことからソホスブビルが BCRP の基質となることが示唆された。なお、GS-331007 については BCRP の基質ではないと考えられた。また BCRP の基質であるプラゾシンの膜透過に対するソホスブビル及び GS-331007 の IC₅₀ はいずれも 300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 以上であったことから、これらの化合物は BCRP を阻害しないと考えられた。

ソホスブビル及び GS-331007 の MRP2 阻害作用について MRP2 を発現させた膜ベシクルで検討した (試験番号 AD-334-2016)。MRP2 の基質であるエストラジオール-17- β -グルクロノ酸抱合体の膜透過に対するソホスブビル及び GS-331007 の IC₅₀ は 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 以上であったことから、これらの化合物は MRP2 を阻害しないと考えられた。

ソホスブビル及び GS-331007 について上述以外のトランスポーターについての検討を行った試験系を表 2.6.4- 14 に示す。

OATP1B1 及び 1B3 を発現させたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞に [¹⁴C] ソホスブビルを 20 及び 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ で添加し、2 及び 20 分間インキュベートしたところ細胞内蓄積性はコントロール (非発現 CHO 細胞) の 2 倍以下であったことから、ソホスブビルは OATP1B1 及び 1B3 の基質ではないことが示唆された (試験番号 PC-PSI-7977-11-0007)。また、OATP1B1 及び 1B3 の基質である [³H] エストロンサルフェート (E3S) 及び Fluo3 を添加し、ソホスブビル及び GS-331007 の阻害作用を検討した。 [³H] エストロンサルフェート及び Fluo3 の細胞内蓄積に対するソホスブビル及び GS-331007 の IC₅₀ はいずれも 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 以上であることから、これらの化合物は OATP1B1 及び 1B3 を阻害しないと考えられた。

OCT1 を発現させた CHO 細胞にソホスブビルを 10 及び 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ になるように添加し、2 及び 20 分間インキュベート後の細胞内蓄積性はコントロール (非発現 CHO 細胞) の 2 倍以内の増加であったことからソホスブビルは OCT1 の基質ではないことが示唆された (試験番号

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

AD-334-2004)。また、OCT1 及び BSEP を発現させた膜ベシクルを用いて、ソホスブビルによる阻害作用を検討した。OCT1 及び BSEP の基質である [¹⁴C] メトホルミン及びタウロコール酸の細胞内蓄積に対するソホスブビルの IC₅₀ はいずれも 100 μmol/L 超であったことから、ソホスブビルは OCT1 及び BSEP を阻害しないと考えられた。

GS-331007 は主に腎臓から排泄されるため、腎臓のトランスポーターである OAT1、OAT3、OCT1、OCT2 及び MATE1 の基質であるかどうかを検討した(試験番号 AD-334-2021 及び AD-334-2005)。また、GS-331007 が肝臓から胆汁への排泄に関する BSEP を阻害するかどうかの検討も実施した。各トランスポーターを発現させた細胞に GS-331007 を添加し、インキュベートした時の細胞内蓄積性はコントロールの 2 倍以内であったことから、GS-331007 はこれらトランスポーターの基質ではないことが示唆された。また、100 μmol/L の GS-331007 での各トランスポーターの基質に対する阻害作用を検討したところ、OAT1 に対してのみ 33% の阻害がみられた。

ソホスブビル及び GS-331007 の各トランスポーターに対する阻害作用の結果を表 2.6.4- 15 に示した。

表 2.6.4- 14 各トランスポーターとの相互作用試験の試験系

Transporter (System)	Test Compounds	Negative Control	Probe Substrate	Reference Inhibitor
BSEP (Vesicle)	Sofosbuvir	Vesicles	taurocholate	CsA
human OAT1 (CHO)	GS-331007	Parental CHO cells	PAH	benzbromarone
human OAT3 (FlpIn)	GS-331007	Parental FlpIn293 cells	E3S	probenecid
human OAT1B1 (CHO)	Sofosbuvir GS-331007	Parental CHO cells	E3S	cerivastatin
human OAT1B3 (CHO)	Sofosbuvir GS-331007	Parental CHO cells	Fluo3	fluvastatin
human OCT1 (CHO)	Sofosbuvir GS-331007	Parental CHO cells	metformin	verapamil
human OCT2 (CHO)	GS-331007	Parental CHO cells	metformin	verapamil
human MATE1 (CHO)	GS-331007	Parental CHO cells	metformin	quinidine

E3S: Estrone-3-sulfate, PAH: p-Aminohippuric acid, CsA: Cyclosporin A

(Source: PC-PSI-7977-11-0007, AD-334-2004 and AD-334-2005)

2.6.4 薬物動態試験の概要文
ソバルデイ[®]錠 400 mg

表 2.6.4- 15 ソホスブビル及び GS-331007 による各種トランスポーターの阻害

	IC ₅₀ (μmol/L)									
	P-gp	BCRP	OATP -1B1	OATP -1B3	OCT1	BSEP	OAT1	OAT3	OCT2	MATE1
Sofosbuvir	> 100	> 300 (44%)	> 300 (23%)	~ 200	~ 100 (48%)	> 100 (18%)	ND	ND	ND	ND
GS-331007	> 100	> 300 (9%)	> 300 (20%)	> 300 (46%)	> 100	> 100	>300 (>100: 33% >300: 8.4%)	> 100	> 100	> 100

ND: Not determined

When applicable, the percent inhibition of probe substrate transport at the highest test concentration of Sofosbuvir or GS-331007 tested is indicated in parentheses.

(Source: [REDACTED] 8215026, AD-334-2004, AD-334-2005, PC-PSI-7977-11-0006, PC-PSI-7977-11-0007 and AD-334-2021)

8. その他の薬物動態試験

8.1. 製剤間比較試験

(試験番号 SA-PSI-7977-11-0004、添付資料 [4.2.2.7.1](#)、評価資料)

製剤開発のサポートとして 400 mg のソホスブビルを含む 3 種類の製剤をイヌに投与し、クロスオーバー試験で PK プロファイルを評価した。

イヌ（雄 4 匹／群、体重：8.85～10.45 kg）にソホスブビルの対照製剤、ドライブレンド及びフィルムコート剤を 400 mg で単回経口投与した。投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12、24、30、36 及び 48 時間に採血し、血漿試料を得た。血漿中ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.17A](#) 項に示した。

ソホスブビル、GS-331007 及び GS-566500 ともに 3 製剤での曝露は類似していた。ドライブレンド及びフィルムコート剤投与後の GS-566500 及び GS-331007 の AUC_{0-48} は対照製剤の約 90% であった。

8.2. ソホスブビルと GS-9851 のブリッジング試験

8.2.1. ラット 14 日間反復投与（TK 試験）

(試験番号 SA-PSI-7977-09-0001、添付資料 [4.2.3.7.7.1](#)、評価資料)

ラットにソホスブビル及び GS-9851 を 14 日間反復経口投与した毒性試験の TK 試験でソホスブビル及び GS-9851 の PK の類似性を評価した。

SD ラット（雌雄各 3 匹／時点、週齢：6～8 週、投与時体重：雄平均 284.5～291.4 g、雌平均 187.3～193.4 g）にソホスブビル及び GS-9851 を 500 mg/kg で 1 日 1 回 14 日間経口投与した。投与媒体には 5% ポリソルベート 80／95% PEG 400 を用い、10 mL/kg の投与容量で投与した。14 日目の投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液を採取し、血漿試料を得た。いずれの投与群も血漿中 GS-9851、GS-566500 及び GS-331007 濃度を LC/MS/MS にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.17B](#) 項に示した。

ソホスブビル及び GS-9851 最終投与後の GS-566500 及び GS-331007 の PK パラメーター (AUC_{last} , t_{max} および $t_{1/2}$) は類似していた。未変化体については、いくつかの試料においてのみ検出されたため評価できなかった。これらの結果から、ラットでの等モルのソホスブビル及び GS-9851 投与後の PK プロファイルは類似していると考えられた。

8.2.2. イヌ 14 日間反復投与（TK 試験）

(試験番号 SA-PSI-7977-09-0002、添付資料 [4.2.3.7.7.2](#)、評価資料)

イヌにソホスブビル及び GS-9851 を 14 日間反復経口投与した毒性試験の TK 試験でソホスブビル

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバレディ[®]錠 400 mg

ル及び GS-9851 の PK の類似性を評価した。

ビーグル犬（雌雄各 2 匹／時点、週齢：7 カ月齢、投与時体重：雄平均 7.715～7.900 kg、雌平均 5.565～5.725 kg）にゼラチンカプセルに充填したソホスブビル及び GS-9851 を 500 mg/kg で 1 日 1 回 14 日間経口投与した。14 日目の投与前並びに投与後 1、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間に血液を採取し、血漿試料を得た。いずれの投与群も血漿中 GS-9851、GS-566500 及び GS-331007 濃度を LC/MS/MS にて測定した。血漿中濃度よりノンコンパートメントモデルで算出した PK パラメーターを [2.6.5.17C](#) 項に示した。

ソホスブビル及び GS-9851 を最終投与後の GS-566500 及び GS-331007 の PK パラメーター (AUC_{last} , t_{max} および $t_{1/2}$) は類似していた。これらの結果から、イヌでの等モルのソホスブビル及び GS-9851 投与後の PK プロファイルは類似していると考えられた。

9. 考察及び結論

ソホスブビルの吸収、分布、代謝、及び排泄プロファイルを、非臨床薬物動態試験で評価した。ラット及びイヌでのソホスブビル及び GS-9851 反復経口投与後の TK 試験の結果では、PK パラメーターに類似性が認められたことから、GS-9851 とソホスブビルは同様の薬物動態学的特徴を有すると考えられたため、全ての試験はソホスブビルの PK プロファイルの評価に使用できると考えられた。

ソホスブビルは経口投与可能なプロドラッグであり、ラット (50 mg/kg) 及びイヌ (5 mg/kg) の肝臓で活性代謝物である GS-461203 が高濃度で産生された。また、マウスでも 500~2000 mg/kg 投与で実施された毒性試験で検出された (2.6.6.4.2.1 項)。ソホスブビル及び GS-9851 の経口投与により、マウス、ラット、イヌ及びサル並びに妊娠ウサギで、主要代謝物である GS-331007 及び GS-566500 の高い曝露が認められ、毒性試験での動物種でも十分な曝露が得られた。

イヌでのソホスブビル経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティは 9.89%、吸収率は 39.7%、肝抽出率は 74% であった。マウス及びラットでは血漿中エステラーゼ活性が高いために GS-9851 の全身曝露量は低かったが、GS-331007 を含む主要代謝物は高濃度で検出された。マウス、ラット及びイヌでのソホスブビル又は GS-9851 反復経口投与後の TK 試験の結果から、反復投与による明らかな蓄積性はみられなかった。

雄 SD ラット並びに妊娠、非妊娠及び分娩後雌 SD ラットでの [¹⁴C] ソホスブビル経口投与後の組織内分布試験では、消化管、リンパ系及び排泄系組織において高濃度の放射能が認められた。また、低濃度の放射能が脳及び CNS で認められた。雄有色ラットでの組織内分布は雄白色ラットと同様であった。妊娠ラットの羊水に放射能が検出されたことから、 [¹⁴C] ソホスブビルの胎盤通過性が示唆された。分娩後ラットでの放射能の乳汁移行は低く、授乳児ラットでの放射能は低濃度であった。

ソホスブビルは加水分解により広範に代謝され、全動物種において主要代謝物である GS-331007 及び GS-566500 の高い曝露が認められた。マウス、ラット及びイヌでの [¹⁴C] ソホスブビル単回経口投与後の血漿中 GS-331007 は、総放射能の 80% 以上を占めた。また、GS-331007 は全動物種の尿及び糞中でも主要代謝物であった。ラット胆汁中の主要代謝物は GS-566500 であった。

マウス、ラット及びイヌにおいて、ソホスブビルは GS-331007 に代謝された後に、主に尿中に排泄された。

ソホスブビルの細胞内活性化は、一般的に薬剤の薬理的有効濃度では阻害されない低親和性／高活性である加水分解酵素 (CES1、CatA、Hint1) 及びヌクレオシドのリン酸化 (UMP-CMPK 及び NDPK 経路) を介する。また、ソホスブビルは CYP の明らかな基質ではないことが示されたことから、他剤との CYP を介した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。一方、ソホスブビルは P-gp 及び BCRP の基質であることが示されたことから、これらの消化管排出トランスポーターの阻害剤や誘導剤との併用による薬物相互作用の可能性は考えられる。なお、ソホスブビルは CYP に対する阻害及び誘導作用を示さなかった。また、P-gp 及び BCRP に対しても阻害作用

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ソバルディ[®]錠 400 mg

を示さなかった。ソホスブビルの代謝に FMO 及び UGT は関与しておらず、UGT1A1 に対する阻害作用も認められなかった。

ソホスブビルは OCT1、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなく、阻害作用も示さなかった。また、BSEP を阻害しなかった。GS-331007 は腎臓から排出されるが、OAT1、OAT3、OCT2 及び MATE1 の基質ではなく、阻害作用も示さなかった。

ヒト初代肝細胞においてテラプレビル（プロテアーゼ阻害剤 [1]）及び CES 阻害剤であるビス（4-ニトロフェニル）ホスフェートによるソホスブビルの活性化への阻害が報告されている [2]。テラプレビルの CatA に対する阻害作用に関する報告があり、テラプレビルの臨床用量では IC_{50} (0.21 μ mol/L) を超える最大血漿中濃度 (5.2 μ mol/L、遊離体濃度で最大 1.7 μ mol/L) に到達するため、臨床的に重要な CatA の阻害剤である可能性がある。テラプレビルは CatA の阻害剤となりうるが、CES1 の阻害剤ではないことが示されている (IC_{50} : 100 μ mol/L 超 [2])。ソホスブビルは CatA 及び CES1 により活性化されるが、ヒト肝細胞内では CES1 がソホスブビル活性化の主要な役割を担っていることから、テラプレビルをソホスブビルと併用してもソホスブビルの活性化に対して臨床的に重要な影響を起こす可能性は低いと考えられる。

以上の結果より、ソホスブビルの非臨床 PK プロファイルにより、HCV 治療における本剤の効果的な使用の妥当性が示された。

10. 図表

図表は本文中に示した。

11. 参考文献

- 1 Liverton NJ, Carroll SS, Dimuzio J, Fandozzi C, Graham DJ, Hazuda D, et al. MK-7009, a potent and selective inhibitor of hepatitis C virus NS3/4A protease. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(1):305-11. ([4.3.6](#))
- 2 Murakami E, Tolstykh T, Bao H, Niu C, Steuer HM, Bao D, et al. Mechanism of activation of PSI-7851 and its diastereoisomer PSI-7977. *J Biol Chem* 2010;285(45):34337-47. ([4.3.7](#))

ソバルデイ[®]錠 400 mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.5 薬物動態試験概要表

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

2.6.5.1	薬物動態試験 一覧表	3
2.6.5.2	分析法	11
2.6.5.3	薬物動態試験：吸収： <i>In vitro</i>	32
2.6.5.4	薬物動態試験：吸収：単回	35
2.6.5.5	薬物動態試験：吸収：反復	40
2.6.5.6	薬物動態試験：分布	51
2.6.5.7	薬物動態試験：血漿タンパク結合	59
2.6.5.8	薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験	60
2.6.5.9	薬物動態試験：その他の分布試験	68
2.6.5.10	薬物動態試験：代謝： <i>In vivo</i>	69
2.6.5.11	薬物動態試験：代謝： <i>In vitro</i>	81
2.6.5.12	薬物動態試験：推定代謝経路	101
2.6.5.13	薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害／誘導	102
2.6.5.14	薬物動態試験：排泄	103
2.6.5.15	薬物動態試験：排泄：胆汁中	106
2.6.5.16	薬物動態試験：薬物相互作用	107
2.6.5.17	薬物動態試験：その他	131

2.6.5 薬物動態試験の概要表

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Analytical Methods and Validation						
Method Validation	Yes	Rat Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	CH-PSI-7851-09-0007	4.2.2.1.1
Method Validation	Yes	Dog Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	CH-PSI-7851-09-0005	4.2.2.1.2
Method Validation	Yes	Rat Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	CH-PSI-7851-09-0004	4.2.2.1.3
Method Validation	Yes	Dog Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	[REDACTED]86-0905	4.2.2.1.4
Equivalency Test	Yes	Rat Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	BA-334-2001	4.2.2.1.5
Equivalency Test	Yes	Dog Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	BA-334-2002	4.2.2.1.6
Partial Method Validation	Yes	Rat Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	BA-334-2005	4.2.2.1.7
Partial Method Validation	Yes	Dog Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	BA-334-2004	4.2.2.1.8
Partial Method Validation	Yes	Mouse Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	BA-334-2003	4.2.2.1.9
Partial Method Validation	Yes	Rabbit Plasma	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	CH-PSI-7977-10-0001	4.2.2.1.10

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表 (続き)

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Conversion of Isomers in Plasma and Urine	No	Rat, Dog, Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	AD-334-2014	4.2.2.1.11
Absorption						
Permeability Across Caco-2 Monolayers	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2003	4.2.2.2.1
Gastric and Intestinal Fluid Stability	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-09-0003	4.2.2.2.2
Gastric and Intestinal Fluid Stability	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-0012	4.2.2.2.3
Single Dose Pharmacokinetics	No	Mouse	Oral	[REDACTED]	PC-PSI-7851-08-0019	4.2.2.2.4
Single Dose Pharmacokinetics	No	Rat	Oral	[REDACTED]	PC-PSI-7851-08-0017	4.2.2.2.5
Single Dose Pharmacokinetics	No	Dog	Oral	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2012	4.2.2.2.6
Single Dose Pharmacokinetics	No	Dog	IV, Oral	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2011	4.2.2.2.7
Multi Dose Pharmacokinetics	No	Dog, Monkey	Oral	[REDACTED]	PC-PSI-7851-08-0018	4.2.2.2.8

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表 (続き)

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO No.)	Location
Multi Dose Pharmacokinetics	Yes	Mouse	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0008 (0515-09261)	4.2.3.2.2
Multi Dose Pharmacokinetics	Yes	Rat	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-10-0004 (0515-10012)	4.2.3.2.6
Multi Dose Pharmacokinetics	Yes	Dog	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-10-0003 (0515-10062)	4.2.3.2.10.2
Embryo-fetal development dose range finding/Rabbit/NZW	No	Rabbit	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-11-0005 (0515-11177)	4.2.3.5.2.3
Embryo-fetal development/Rabbit/NZW	Yes	Rabbit	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-11-0006 (0515-10241)	4.2.3.5.2.4

Distribution

Tissue Distribution of Radioactivity	No	Rat (Sprague-Dawley and Long-Evans)	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0005	4.2.2.3.1
Plasma Protein Binding	No	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7977-11-0001	4.2.2.3.2
Placental and Milk Transfer of Radioactivity	No	Rat	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-11-0008	4.2.2.3.3

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ®錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表 (続き)

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Metabolism						
Metabolite Identification and Profiling of Radioactivity	No	Mouse	Oral	[REDACTED]	PC-PSI-7977-11-0008	4.2.2.4.1
Metabolite Identification and Profiling of Radioactivity	No	Rat	Oral	[REDACTED]	CH-PSI-7977-09-0002	4.2.2.4.2
Metabolite Identification and Profiling of Radioactivity	No	Rat	Oral	[REDACTED]	PC-PSI-7977-11-0009	4.2.2.4.3
Metabolite Identification and Profiling of Radioactivity	No	Dog	Oral	[REDACTED]	CH-PSI-7977-09-0001	4.2.2.4.4
Hepatic S9 and Plasma Stability	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-0013	4.2.2.4.5
Hepatic S9 and Plasma Stability	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-09-0002	4.2.2.4.6
Whole Blood Stability	No	Rat	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7851-08-0015	4.2.2.4.7
Whole Blood Stability	No	Mouse, Dog, Monkey, Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7851-08-0016	4.2.2.4.8
Cathepsin A Hydrolysis	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-0026	4.2.2.4.9
Carboxylesterase 1 and 2 Hydrolysis	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-09-0014	4.2.2.4.10
Cathepsin A and Carboxylesterase 1 Hydrolysis	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-09-0001	4.2.2.4.11
Hint1	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2018	4.2.2.4.12

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表 (続き)

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
UMP-CMP kinase and nucleoside diphosphate kinase	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2019	4.2.2.4.13
Hepatocyte Metabolism	No	Rat, Dog, Monkey, Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-0011	4.2.2.4.14
Hepatocyte Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-00014	4.2.2.4.15
Hepatocytes Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2017	4.2.2.4.16
Clone A Cell Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-08-0010	4.2.2.4.17
Peripheral Blood Mononuclear Cell Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-09-0003	4.2.2.4.18
Hepatocyte and Peripheral Blood Mononuclear Cell Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-11-0004	4.2.2.4.19
Liver Microsome Stability	No	Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0004	4.2.2.4.20
CYP recombinant	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2015	4.2.2.4.21
Excretion						
Excretion of Radioactivity	No	Mouse	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-11-0007	4.2.2.5.1
Excretion of Radioactivity	No	Rat	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0003	4.2.2.5.2

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ®錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表 (続き)

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Excretion of Radioactivity	No	Dog	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-10-0002	4.2.2.5.3
Pharmacokinetic Drug Interactions						
Cytochrome P450 Expressing Supersomes	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-09-0011	4.2.2.6.1
Cytochrome P450 Expressing Supersomes	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7851-09-0009	4.2.2.6.2
Human microsome	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2020	4.2.2.6.3
Hepatocyte Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Pharmasset, Inc. Princeton, NJ, US	PC-PSI-7977-11-0002	4.2.2.6.4
Hepatocyte Metabolism	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2010	4.2.2.6.5
Hepatocyte Induction	No	Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7977-10-0005	4.2.2.6.6
Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 1A1 Expressing Supersomes	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2013	4.2.2.6.7
UGT1A1 inhibition	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2022	4.2.2.6.8
Permeability Across Caco-2 Monolayers	No	Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	[REDACTED] 8215026	4.2.2.6.9
Permeability Across Caco-2 Monolayers	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2002	4.2.2.6.10

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表（続き）

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Transporter Transfected Cells and Membrane Vesicles	No	Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7977-11-0006	4.2.2.6.11
MRP2 inhibition	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2016	4.2.2.6.12
Transporter Transfected Cells	No	Human	<i>In Vitro</i>	[REDACTED]	PC-PSI-7977-11-0007	4.2.2.6.13
Transporter Transfected Cells and Membrane Vesicles	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2004	4.2.2.6.14
OAT1 inhibition	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2021	4.2.2.6.15
Transporter Transfected Cells and Membrane Vesicles	No	Human	<i>In Vitro</i>	Gilead Sciences, Inc. Foster City, CA, US	AD-334-2005	4.2.2.6.16

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.1 薬物動態試験

一覧表（続き）

Test Articles: Sofosbuvir, GS-9851, GS-606965, GS-566500, GS-461203, GS-607596 and GS-331007

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location
Other Pharmacokinetic Studies						
Single Dose Pharmacokinetics (Comparability study of SOF tablet formulations)	No	Dog	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-11-0004	4.2.2.7.1
Multi Dose Pharmacokinetics (Bridging study comparing SOF and GS-9851)	Yes	Rat	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0001	4.2.3.7.7.1
Multi Dose Pharmacokinetics (Bridging study comparing SOF and GS-9851)	Yes	Dog	Oral	[REDACTED]	SA-PSI-7977-09-0002	4.2.3.7.7.2

a: An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法

ラット血漿中定量法

Report Number: CH-PSI-7851-09-0007 Location: [4.2.2.1.1](#) Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations		Results		
Species	Matrix				(ng/mL)	R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rat	Plasma (DDVP)	GS-9851	Protein precipitation	Calibration range	5-2500	≥0.9972	NA	NA	
				Intra-day	5	NA	≤6.8	-11.5 to -7.3	
			LC/MS/MS		15, 500, 1875	NA	≤5.9	-6.8 to 5.5	
				Inter-day	5	NA	6.4	-9.7	
		Weight: 1/X ²			15, 500, 1875	NA	≤4.6	-5.2 to -2.7	
		K ₂ EDTA	Dilution	5000 (10-folds)	NA	1.8	6.2		
					Bench top stability	15, 1875	16 h at 4°C		
					Long-term stability	15, 1875	139 days -70°C		
					Freeze-Thaw stability	15, 1875	4 cycles at -70°C		
					Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	138 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

ラット血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0007

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)		Results	
				R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rat Plasma (DDVP)	GS-566500 Weight: 1/X ²	Protein precipitation	Calibration range	10-5000	≥0.9954	NA	NA
			Intra-day	10	NA	≤15.7	-11.1 to 12.2
		LC/MS/MS		30, 1000, 3750	NA	≤10.0	-5.3 to 4.1
			Inter-day	10	NA	16.5	3.8
				30, 1000, 3750	NA	≤8.6	-2.5 to 0.0
	K ₂ EDTA	Weight: 1/X ²	Dilution	10000 (10-folds)	NA	5.7	4.8
			Bench top stability	30, 3750	16 h at 4°C		
			Long-term stability	30, 3750	167 days at -70°C		
		K ₂ EDTA	Freeze-Thaw stability	30, 3750	7 cycles at -70°C		
			Reinjection reproducibility	30, 1000, 3750	138 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

ラット血漿中定量法（続き）

Report Number: CH-PSI-7851-09-0007

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)		Results	
				R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rat Plasma (DDVP)	GS-606965 Weight: 1/X ²	Protein precipitation	Calibration range	50-25000	≥0.9958	NA	NA
			Intra-day	50	NA	≤11.8	-19.2 to -3.3
		LC/MS/MS		150, 5000, 18750	NA	≤5.2	-7.6 to 0.1
			Inter-day	50	NA	11.3	-10.3
				150, 5000, 18750	NA	≤5.0	-4.7 to -1.3
	K ₂ EDTA	Weight: 1/X ²	Dilution	50000 (10-folds)	NA	3.0	6.9
			Bench top stability	150, 18750	16 h at 4°C		
			Long-term stability	150, 18750	167 days at -70°C		
		K ₂ EDTA	Freeze-Thaw stability	150, 18750	7 cycles at -70°C		
			Reinjection reproducibility	150, 5000, 18750	138 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

ラット血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0007

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)		Results	
				R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rat Plasma (DDVP)	GS-331007 Weight: 1/X ²	Protein precipitation	Calibration range	20-10000	≥0.9962	NA	NA
			Intra-day	20	NA	≤12.7	-18.8 to -3.9
		LC/MS/MS		60, 2000, 7500	NA	≤5.6	-7.5 to 6.4
			Inter-day	20	NA	11.9	-12.2
				60, 2000, 7500	NA	≤5.7	-4.7 to 2.6
	K ₂ EDTA	Weight: 1/X ²	Dilution	20000 (10-folds)	NA	3.9	4.6
			Bench top stability	60, 7500	16 h at 4°C		
			Long-term stability	60, 7500	139 days at -70°C		
		K ₂ EDTA	Freeze-Thaw stability	60, 7500	7 cycles at -70°C		
			Reinjection reproducibility	60, 2000, 7500	138 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

イヌ血漿中定量法

Report Number: CH-PSI-7851-09-0005

Location: [4.2.2.1.2](#)

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Dog Plasma ([REDACTED] Project Number-86-0804)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations		Results	
Species	Matrix				(ng/mL)	R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Dog	Plasma (DDVP)	GS-9851	Protein precipitation	Calibration range	5-2500	≥0.9978	NA	NA
				Intra-day	5	NA	≤10.2	-13.8 to 14.6
		LC/MS/MS	Weight: 1/X ²		15, 500, 1875	NA	≤9.7	-6.5 to 7.1
				Inter-day	5	NA	15.8	-2.1
		1/X ²	Dilution		15, 500, 1875	NA	≤9.2	-1.8 to 1.0
				Bench top stability	15, 1875	6 h at room temperature		
				Short-term stability	15, 1875	16 days at -70°C		
				Freeze-Thaw stability	15, 1875	5 cycles at -70°C		
				Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	139 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

イヌ血漿中定量法（続き）

Report Number: CH-PSI-7851-09-0005

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Dog Plasma (█ Project Number-86-0804)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Dog	Plasma (DDVP)	GS-566500	Protein precipitation	Calibration range	9.322 - 4661.000	≥0.9931	NA	NA
				Intra-day	9.322	NA	≤9.7	-2.2 to 8.6
		LC/MS/MS			27.966, 932.200, 3495.750	NA	≤14.9	-11.8 to 2.4
		Weight: 1/X ²	Inter-day	9.322	NA	8.3	1.6	
				27.966, 932.200, 3495.750	NA	≤10.6	-9.9 to -5.8	
		Dilution	9322 (10 folds)	NA	4.3	-7.7		
		Bench top stability	27.966, 3495.750	6 h at room temperature				
		Short-term stability	27.966, 3495.750	16 days at -70°C				
		Freeze-Thaw stability	27.966, 3495.750	5 cycles at -70°C				
		Reinjection reproducibility	27.966, 932.200, 3495.750	139 h at 4°C				

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

イヌ血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0005

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Dog Plasma ([REDACTED] Project Number-86-0804)

Biological Sample	Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Species	Matrix						
Dog	Plasma (DDVP)	GS-606965	Protein precipitation	Calibration range	50-25000	≥0.9976	NA
				Intra-day	50	NA	≤8.0
			LC/MS/MS		150, 5000, 18750	NA	≤8.4
				Inter-day	50	NA	6.9
		Weight: 1/X ²			150, 5000, 18750	NA	≤5.9
			Dilution	50000 (10-folds)	NA	2.1	-1.4 to 2.6
				Bench top stability	150, 18750	6 h at room temperature	
			Short-term stability	150, 18750	21 days at -70°C		
				Freeze-Thaw stability	150, 18750	5 cycles at -70°C	
			Reinjection reproducibility	150, 5000, 18750	139 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

イヌ血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0005

Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for the Determination of PSI-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Dog Plasma ([REDACTED] Project Number-86-0804)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Dog	Plasma (DDVP)	GS-331007	Protein precipitation	Calibration range	20-8000	≥0.9948	NA	NA
				Intra-day	20	NA	≤9.4	-6.1 to 6.6
			LC/MS/MS		60, 2000, 7500	NA	≤9.2	-3.7 to 13.4
				Inter-day	20	NA	9.5	-0.5
			Weight: 1/X ²		60, 2000, 7500	NA	≤6.9	0.0 to 7.1
				Dilution	20000 (10-folds)	NA	4.1	-11.3
				Bench top stability	60, 7500	6 h at room temperature		
				Short-term stability	60, 7500	21 days at -70°C		
				Freeze-Thaw stability	60, 7500	5 cycles at -70°C		
				Reinjection reproducibility	60, 2000, 7500	139 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

ラット血漿中定量法

Report Number: CH-PSI-7851-09-0004 Location: [4.2.2.1.3](#) Test Article: GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma ([REDACTED] Project Number-86-0803)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Rat	Plasma (DDVP)	GS-566500	Protein precipitation	Calibration range	10-5000	0.9912	NA	NA
				Intra-day	10	NA	12.8	-8.9
			LC/MS/MS		30, 1000, 3750	NA	≤6.4	-5.5 to -1.7
		Weight: 1/X ²	Dilution		10000 (10-folds)	NA	5.9	-7.7
				Freeze-Thaw stability	30, 3750	5 cycles at -70°C		
				Short-term stability	30, 3750	15 days at -70°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

ラット血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0004

Test Article: GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma (█ Project Number-86-0803)

Biological Sample		Analytes Species Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Rat	Plasma (DDVP)	GS-606965	Protein precipitation	Calibration range	50-25000	0.9966	NA	NA
				Intra-day	50	NA	4.6	7.2
			LC/MS/MS		150, 5000, 18750	NA	≤3.2	-11.9 to 2.5
		Weight: 1/X ²	Dilution		50000 (10-folds)	NA	3.5	-11.1
				Freeze-Thaw stability	150, 18750	5 cycles at -70°C		
				Short-term stability	150, 18750	15 days at -70°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

ラット血漿中定量法 (続き)

Report Number: CH-PSI-7851-09-0004

Test Article: GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Validation of a Method for PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 in Rat Plasma ([REDACTED] Project Number-86-0803)

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)
Rat	Plasma (DDVP)	GS-331007	Protein precipitation	Calibration range	20-8000	0.9980	NA	NA
				Intra-day	20	NA	5.8	-10.6
			LC/MS/MS		60, 2000, 7500	NA	≤4.6	-7.2 to -0.1
		Weight: 1/X ²	Dilution		20000 (10-folds)	NA	1.9	-10.2
				Freeze-Thaw stability	60, 7500	5 cycles at -70°C		
				Short-term stability	60, 7500	15 days at -70°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.2 分析法 (続き)

イヌ血漿中定量法

Report Number: [REDACTED] 86-0905 Location: 4.2.2.1.4 Test Article: GS-9851, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PS-7851, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 Dog Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)		Results	
				R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Dog (DDVP)	GS-9851 Plasma	Protein precipitation,	Calibration range	5-2500	0.9989	NA	NA
			Intra-day	5	NA	10.1	6.9
		LC/MS/MS, Weight: 1/X ²		15, 500, 1875	NA	≤2.4	-1.3 to 7.4
			Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	107 h at 4°C		
			Calibration range	10-5000	0.9923	NA	NA
	GS-566500	Weight: 1/X ²	Intra-day	10	NA	5.7	-6.8
				30, 1000, 3750	NA	≤6.0	-4.2 to 3.7
		Weight: 1/X ²	Reinjection reproducibility	30, 1000, 3750	107 h at 4°C		
			Calibration range	50-25000	0.9969	NA	NA
			Intra-day	50	NA	4.8	-6.4
GS-606965	GS-606965	Weight: 1/X ²		150, 5000, 18750	NA	≤4.4	-1.8 to 0.2
			Reinjection reproducibility	150, 5000, 18750	107 h at 4°C		
			Calibration range	20-10000	0.9979	NA	NA
		Weight: 1/X ²	Intra-day	20	NA	4.6	10.1
				60, 2000, 7500	NA	≤4.8	-1.8 to 8.1
	GS-331007	Weight: 1/X ²	Reinjection reproducibility	60, 2000, 7500	107 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

ラット血漿中定量法

Report Number: BA-334-2005

Location: [4.2.2.1.7](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977 in K₂ EDTA Rat Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results			
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rat	Plasma (DDVP)	Sofosbuvir	Protein precipitation	Calibration range	5-2500	0.9957	NA	NA	
				Intra-day	5	NA	9.0	16.9	
		LC/MS/MS			15, 500, 1875	NA	≤8.8	10.3 to 11.6	
				Dilution	5000 (100-folds)	NA	0.8	14.0	
				Weight: 1/X ²	Bench top stability	15, 1875	17 h on wet ice		
					Long-term stability	15, 1875	349 days at -70°C		
					Freeze-Thaw stability	15, 1875	6 cycles at -70°C		
					Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	64 h at room temperature		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

イヌ血漿中定量法

Report Number: BA-334-2004

Location: [4.2.2.1.8](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977 in Dog Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results				
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)		
Dog	Plasma (DDVP)	Sofosbuvir	Protein precipitation	Calibration range	5-2500	0.9961	NA	NA		
				Intra-day	5	NA	5.0	-0.5		
		LC/MS/MS	Weight: 1/X ²		15, 500, 1875	NA	≤5.3	-1.6 to 3.0		
				Dilution	5000 (100-folds)	NA	4.0	1.6		
				Bench top stability	15, 1875	8.5 h at room temperature				
				Long-term stability	15, 1875	149 days at -70°C				
				Freeze-Thaw stability	15, 1875	5 cycles at -70°C				
				Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	176 h at room temperature				

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

マウス血漿中定量法

Report Number: BA-334-2003

Location: 4.2.2.1.9

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in K₂ EDTA Mouse Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)		Results	
				R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Mouse (DDVP)	Plasma (DDVP)	Sofosbuvir Protein precipitation	Calibration range	5-2500	0.9972	NA	NA
			Intra-day	5	NA	10.0	12.0
		LC/MS/MS		15, 500, 1875	NA	≤12.1	-0.6 to 9.0
			Dilution	5000 (10-fold)	NA	2.5	-2.8
			Weight: 1/X ²	Bench top stability	15, 1875	8 h on wet ice	
	Weight: 1/X ²	LC/MS/MS	Long-term stability	15, 1875	84 days at -70°C		
			Freeze-Thaw stability	15, 1875	4 cycles at -70°C		
		Weight: 1/X ²	Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	81 h at room temperature		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

マウス血漿中定量法（続き）

Report Number: BA-334-2003

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in K₂ EDTA Mouse Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results			
					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Mouse (DDVP)	Plasma (DDVP)	GS-566500	Protein precipitation	Calibration range	10-5000	0.9946	NA	
				Intra-day	10	NA	11.3	
		LC/MS/MS			30, 1000, 3750	NA	≤10.1	
				Dilution	10000 (10-fold)	NA	3.7	
				Weight: 1/X ²	Bench top stability	30, 3750	6.5 h on wet ice	
					Long-term stability	30, 3750	84 days at -70°C	
					Freeze-Thaw stability	30, 3750	5 cycles at -70°C	
					Reinjection reproducibility	30, 1000, 3750	101 h at room temperature	

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

マウス血漿中定量法（続き）

Report Number: BA-334-2003

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in K₂ EDTA Mouse Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results			
					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Mouse (DDVP)	Plasma (DDVP)	GS-331007	Protein precipitation	Calibration range	20-10000	0.9979	NA	
				Intra-day	20	NA	5.2	
		LC/MS/MS			60, 2000, 7500	NA	≤3.9	
				Dilution	20000 (10-fold)	NA	5.6	
				Weight: 1/X ²	Bench top stability	60, 7500	8 h on wet ice	
					Long-term stability	60, 7500	84 days at -70°C	
					Freeze-Thaw stability	60, 7500	4 cycles at -70°C	
					Reinjection reproducibility	60, 2000, 7500	81 h at room temperature	

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

ウサギ血漿中定量法

Report Number: CH-PSI-7977-10-0001 Location: [4.2.2.1.10](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in Rabbit Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample		Analytes	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results				
Species	Matrix					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)		
Rabbit	Plasma (DDVP)	Sofosbuvir	Protein precipitation	Calibration range	5-2500	0.9992	NA	NA		
				Intra-day	5	NA	5.8	6.1		
		LC/MS/MS	Weight: 1/X ²		15, 500, 1875	NA	≤2.1	5.5 to 9.5		
				Dilution	5000 (50-folds)	NA	1.5	5.2		
				Bench top stability	15, 1875	18 h at 4°C				
				Long-term stability	15, 1875	505 days at -70°C				
				Freeze-Thaw stability	15, 1875	6 cycles at -70°C				
				Reinjection reproducibility	15, 500, 1875	114 h at 4°C				

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

ウサギ血漿中定量法（続き）

Report Number: CH-PSI-7977-10-0001

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in Rabbit Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results					
					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)			
Rabbit	Plasma (DDVP)	GS-566500	Protein precipitation	Calibration range	10-5000	0.9985	NA			
				Intra-day	10	NA	10.3			
		LC/MS/MS			30, 1000, 3750	NA	≤2.0			
				Dilution	10000 (50-folds)	NA	2.3			
				Weight: 1/X ²	Bench top stability	30, 3750	18 h at 4°C			
					Long-term stability	30, 3750	505 days at -70°C			
					Freeze-Thaw stability	30, 3750	6 cycles at -70°C			
					Reinjection reproducibility	30, 1000, 3750	114 h at 4°C			

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

ウサギ血漿中定量法（続き）

Report Number: CH-PSI-7977-10-0001

Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-331007

Report Title: Partial Validation of a Method for the Determination of PSI-7977, PSI-352707, and PSI-6206 in Rabbit Plasma by LC-MS/MS

Biological Sample Species	Analytes Matrix	Methods	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results			
					R ²	Precision (%cv)	Accuracy (%cv)	
Rabbit	Plasma (DDVP)	GS-331007	Protein precipitation	Calibration range	20-10000	0.9994	NA	
				Intra-day	20	NA	6.4	
		LC/MS/MS			60, 2000, 7500	NA	2.4	
				Dilution	20000 (50-folds)	NA	2.6	
							8.9	
	Weight: 1/X ²		Bench top stability		60, 7500	18 h at 4°C		
					60, 7500	505 days at -70°C		
			Freeze-Thaw stability		60, 7500	6 cycles at -70°C		
					60, 2000, 7500	114 h at 4°C		

NA: not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.2 分析法（続き）

血漿及び尿中での変換

Report Number: AD-334-2014

Location: [4.2.2.1.11](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Test to Monitor Conversion from PSI-7977 to PSI-7976 in Rat, Dog and Human Plasma and Human Urine by LC/MS/MS

Conditions ^a	% GS-491241					
	GS-491241 Neat	Sofosbuvir Neat	Rat Plasma ^b	Dog Plasma	Human Plasma	Human Urine
Freshly prepared	100	0.123	0.126	0.126	0.124	0.134
Storage at -70°C for 35 days	100	0.118	0.130	0.133	0.114	0.145
Re-injection after storage at 4°C for 14 days	99.757	0.137	0.159	0.152	0.147	0.149
Before bench-top exposure or freeze/thaw cycles	99.757	0.173	0.152	0.141	0.147	0.157
After bench-top exposure ^c			0.162	0.161	0.141	0.160
After freeze/thaw cycles ^d			0.156	0.153	0.143	0.155

a: Sofosbuvir was incubated at 2500, 2500, 5000, and 10,000 ng/mL in rat plasma, dog plasma, human plasma, and human urine, respectively.

b: Rat plasma was treated with 1 mmol/L DDVP.

c: Bench-top exposure conditions (16 h on wet-ice for rat plasma, 6 h at room temperature for dog plasma, 7 h on wet-ice for human plasma, and 6 h on wet-ice for human urine).

d: Freeze/thaw cycles (4 cycles for rat plasma, 8 cycles for dog plasma, and 5 cycles for human plasma and urine).

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.3 A 薬物動態試験：吸収：*In vitro*

膜透過性 (Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* での評価)

Report Number: AD-334-2003 Location: [4.2.2.2.1](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Determination of the Effect of Concentration on the Bidirectional Permeability of GS-7977 through Monolayers of Caco-2 Cells

Type of Study:	Caco-2 permeability		
Method:	The concentration dependence of the bidirectional permeability of Sofosbuvir through monolayers of Caco-2 cells in 12 well trans-well plates was determined at SOF concentrations of 10 $\mu\text{mol/L}$ to 2,800 $\mu\text{mol/L}$.		
Incubation Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Efflux Ratio
	Forward (A→B)	Reverse (B→A)	
10	0.22	10.9	49.7
350	0.29	10.5	35.9
700	0.28	9.92	35.4
1400	0.39	5.45	13.9
2800	0.38	2.79	7.3
Method:	The forward permeability of SOF through monolayers of Caco-2 cells when incubated at its theoretical intestinal concentration (3020 $\mu\text{mol/L}$) was compared to the high and low permeability reference compounds minoxidil (incubated at 10 $\mu\text{mol/L}$) and atenolol (incubated at 100 $\mu\text{mol/L}$), respectively, incubated in the same wells.		
Incubation Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Efflux Ratio
	Forward (A→B)	Reverse (B→A)	
Sofosbuvir (3020)	0.708	4.11	5.81
Atenolol (100)	0.515	ND	NA
Minoxidil (10)	6.64	ND	NA

Experiments done in duplicate

A = apical; B = basolateral; NA = not applicable; ND = not determined; Papp = apparent permeability; SOF=sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.3 B 薬物動態試験：吸収：*In vitro* (続き)

胃液及び腸液中安定性

Report Number: PC-PSI-7977-09-0003 Location: [4.2.2.2.2](#) Test Article: Sofosbuvir, GS-491241

Report Title: Stability of PSI-7851 Diastereoisomers, PSI-7976 and PSI-7977, in Simulated Gastric Fluid Or Simulated Intestinal Fluid

		Stability, $t_{1/2}$ (h)
GS-491241	Simulated gastric fluid	20.6
	Simulated intestinal fluid	> 20
Sofosbuvir	Simulated gastric fluid	13.5
	Simulated intestinal fluid	> 20

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.3 C 薬物動態試験：吸収：*In vitro*（続き）

胃液及び腸液中安定性

Report Number: PC-PSI-7851-08-0012 Location: [4.2.2.2.3](#) Test Article: GS-9851

Report Title: PSI-7851 stability in simulated gastric fluid or simulated intestinal fluid

	Stability, $t_{1/2}$ (h)
Simulated gastric fluid	> 20
Simulated intestinal fluid	> 20

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.4 A 薬物動態試験：吸収：単回

マウスでの単回投与

Report Number: PC-PSI-7851-08-0019 Location: [4.2.2.2.4](#) Test Article: GS-9851

Report Title: Plasma and Liver PK of PSI-7851 Following Single Oral Dose Administration in CD-1 Mice

Species/Strain	CD-1 Mice				
Sex/ No. of Animals	M/21	M/21	M/21	M/21	M/21
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% carboxymethyl cellulose sodium				
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time (h)	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24			0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24	
Sample	Plasma	Plasma	Liver	Liver	Liver
Dose (mg/kg)	50	50	50	50	50
Analyte	GS-9851	GS-331007	GS-9851	GS-331007	GS-461203
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters					
T _{max} (h)	NC	1.00	NC	1.00	NC
C _{max} (ng/mL)	BLQ	2774	BLQ	1676	BLQ
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	NC	24453	NC	12326	NC
(time for calculation – h)	NA	0-24	NA	0-24	NA
t _{1/2} (h)	NC	2.26	NC	2.80	NC
(time for calculation – h)	NA	6-24	NA	6-24	NA

AUC = area under the concentration-time curve; BLQ = below the lower limit of quantitation (lower limit of quantitation in plasma and liver for GS-9851: 2 ng/mL; lower limit of quantitation in liver for GS-461203: 40 ng/mL); C_{max} = maximum concentration; M = male; N = number; NA = not applicable; NC = not calculable; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.4. B 薬物動態試験：吸収：単回（続き）

ラットでの単回投与

Report Number: PC-PSI-7851-08-0017 Location: [4.2.2.2.5](#) Test Article: GS-9851

Report Title: Plasma and Liver PK of PSI-7851 Following Single Oral Dose Administration in SD Rats

Species/Strain	Sprague-Dawley Rat				
Sex/ No. of Animals	M/21	M/21	M/21	M/21	M/21
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	0.5% carboxymethyl cellulose sodium				
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time (h)	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24			0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24	
Sample	Plasma	Plasma	Liver	Liver	Liver
Dose (mg/kg)	50	50	50	50	50
Analyte	GS-9851	GS-331007	GS-9851	GS-331007	GS-461203
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters					
T _{max} (h)	NC	4.00	NC	1.00	4.00
C _{max} (ng/mL)	BLQ	415	BLQ	1786	1935
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	NC	3131	NC	13662	16796
(time for calculation – h)	NA	0-24	NA	0-24	0-24
t _{1/2} (h)	NC	2.96	NC	3.66	5.74
(time for calculation – h)	NA	4-24	NA	4-24	1-24

AUC = area under the concentration-time curve; BLQ = below the lower limit of quantitation (lower limit of quantitation in plasma and liver for GS-9851: 2 ng/mL); C_{max} = maximum concentration; M = male; N = number; NA = not applicable; NC = not calculable; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.4. C 薬物動態試験：吸収：単回（続き）

イヌでの単回投与

Report Number: AD-334-2012 Location: [4.2.2.6](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Pharmacokinetics of GS-7977 and Its Metabolites in Plasma and Liver of Pentagastrin Pretreated Male Beagle Dogs

Species/Strain	Beagle Dog								
Sex/ No. of Animals	M/6	M/6	M/6	M/6	M/6	M/6	M/6	M/6	
Feeding Condition	Fasted ^a	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	
Vehicle/Formulation	5% ethyl alcohol, 55% PEG400, and 40% citrate buffer (pH 2.2)								
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	
Sampling Time (h)	Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24			4, 8, 24					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Liver	Liver	Liver	Liver	Liver	
Dose (mg/kg)	5	5	5	5	5	5	5	5	
Analyte	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596 ^b	GS-461203	
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	
PK Parameters									
T _{max} (h)	0.38	0.75	5.00	4.00	4.00	8.00	8.00	8.00	
C _{max} (ng/mL)	519	181	827	838	6704	629	2567	23760	
AUC _{0-t} (ng/mL•h)	413	489	6895	7129	46107	10988	38658	416767	
(time for calculation – h)	0-2	0-6	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	
t _{1/2} (h)	0.29	1.97	4.04	6.28	4.64	18.2	10.4	17.8	
(time for calculation – h)	0.5-2	2-6	8-24	8-24	8-24	8-24	8-24	8-24	

AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; M = male; NA = not applicable; PEG400 = 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400;

PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum concentration

a: Fasted = animals were pretreated with pentagastrin approximately 20 minutes prior to the dosing

b: GS-607596 concentrations are estimated based on calibration curve for GS-461203

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.4. D 薬物動態試験：吸収：単回（続き）

イヌでの絶対的バイオアベイラビリティ

Report Number: AD-334-2011

Location: [4.2.2.2.7](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Plasma PK of GS-7977 in Portal Vein Cannulated Dogs Based on Portal and Jugular Sampling

Species/Strain	Beagle Dog								
Sex/ No. of Animals	M/3	M/3	M/3	M/3	M/3	M/3			
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted ^a	Fasted ^a	Fasted ^a			
Vehicle/Formulation	5% ethyl alcohol 45% PEG400 50% acetate buffer (pH 4)			5% ethyl alcohol 55% PEG400 40% citrate buffer (pH 3.5)					
Method of Administration	Intravenous Infusion	Intravenous Infusion	Intravenous Infusion	Oral					
Sampling Time (h)	Pre-dose, 0.25, 0.483, 0.583, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24			Pre-dose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma		
Dose (mg/kg)	0.5	0.5	0.5	5	5	5			
Analyte	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007			
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS			

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.4. D 薬物動態試験：吸収：単回（続き）

イヌでの絶対的バイオアベイラビリティ（続き）

Report Number: AD-334-2011

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Plasma PK of GS-7977 in Portal Vein Cannulated Dogs Based on Portal and Jugular Sampling

PK Parameters						
T _{max} (h)	0.48	0.64	2.50	0.42	1.00	2.33
C _{max} (ng/mL)	445	61.7	59.8	238	189	632
AUC _{0-t} (ng/mL·h)	222	94.6	515	217	432	5048
(time for calculation – h)	0-2	0-4	0-12	0-2	0-6	0-24
t _{1/2} (h)	0.25	1.07	7.59	0.31	1.24	4.07
(time for calculation – h)	0.48-2	0.75-4	4-24	0.5-2	1-6	4-24
Clearance (L/h/kg)	2.27	NA	NA	NA	NA	NA
F _a (%)	NA	NA	NA	39.7 ^b	NA	NA
E _H	NA	NA	NA	0.74 ^b	NA	NA
Bioavailability (%)	NA	NA	NA	9.89 ^b	NA	NA

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; E_H = hepatic extraction, calculated based on Sofosbuvir exposure observed in the portal vein (data not shown) relative to the exposure observed in the jugular vein; F_a = fraction absorbed, calculated based on the oral bioavailability and hepatic extraction of Sofosbuvir ; M = male; NA = not applicable; PEG400 = 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration

a: Fasted = animals were pretreated with pentagastrin approximately 20 minutes prior to the oral administration

b: Values were calculated from the PK parameter of portal vein.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 A 薬物動態試験：吸収：反復

イヌ及びサルでの反復投与

Report Number: PC-PSI-7851-08-0018 Location: [4.2.2.2.8](#) Test Article: GS-9851

Report Title: Plasma and Liver PK of PSI-7851 in the Beagle Dog and Cynomolgus Monkey Following Multiple Daily Oral Dose Administration

Species/Strain	Beagle Dog						
Sex/ No. of Animals	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1
Feeding Condition	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted
Vehicle/Formulation	20% hydroxypropyl- β -cyclodextrin in water						
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 15 and 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h on Day 3			4 h post dose on Day 4			
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Liver	Liver	Liver	Liver
Dose (mg/kg)	50	50	50	50	50	50	50
Analyte	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-461203
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters ^a							
T _{max} (h) ^b	0.50	1.00	6.00	NA	NA	NA	NA
C _{max} (ng/mL) ^c	6179	921.0	2604	612.2	18558	2572	10560
AUC _{0-t} (ng \cdot h/mL)	6894	4351	31785	NA	NA	NA	NA
(time for calculation – h)	0-6	0-24	0-24	NA	NA	NA	NA
t _{1/2} (h)	0.62	4.52	6.18	NA	NA	NA	NA
(time for calculation – h)	0.5-6	2-24	6-24	NA	NA	NA	NA

AUC = area under the concentration-time curve; C_{max} = maximum concentration; M = male; NA = not applicable; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum concentration

a: PK parameters for plasma were calculated based on Day-3 postdose

b: Liver samples were collected at 4 hours Day-4 postdose only

c: Units for liver concentrations are ng/g

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 A 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

イヌ及びサルでの反復投与（続き）

Report Number: PC-PSI-7851-08-0018

Test Article: GS-9851

Report Title: Plasma and Liver PK of PSI-7851 in the Beagle Dog and Cynomolgus Monkey Following Multiple Daily Oral Dose Administration

Species/Strain	Cynomolgus Monkey							
Sex/ No. of Animals	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	
Feeding Condition	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	
Vehicle/Formulation	20% hydroxypropyl- β -cyclodextrin in water							
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	
Sampling Time	Pre-dose, 15 and 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h on Day 3			4 h post dose on Day 4				
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Liver	Liver	Liver	Liver	
Dose (mg/kg)	50	50	50	50	50	50	50	
Analyte	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-461203	
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	
PK Parameters^a								
T _{max} (h) ^b	1.00	6.00	2.00	NA	NA	NA	NA	
C _{max} (ng/mL) ^c	32.6	536.6	348.5	179.9	10668	1421	BLQ	
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	85.6	4706	7379	NA	NA	NA	NC	
(time for calculation – h)	0-6	0-24	0-24	NA	NA	NA	NA	
t _{1/2} (h)	NC	5.16	>24	NA	NA	NA	NC	
(time for calculation – h)	NA	6-24	6-24	NA	NA	NA	NA	

AUC = area under the concentration-time curve; BLQ = below the lower limit of quantitation (lower limit quantitation in liver for GS-461203: 50 ng/mL); C_{max} = maximum concentration; M = male; NA = not applicable; NC = not calculable; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum concentration

a: PK parameters for plasma were calculated based on Day-3 postdose

b: Liver samples were collected at 4 hours Day-4 postdose only

c: Units for liver concentration was ng/g

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5. B 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

マウス 3 カ月間反復投与試験 (TK 試験)

Report Number: SA-PSI-7977-09-0008 Location: [4.2.3.2.2](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Three-Month Oral GLP Toxicity Study of PSI-7977 in the Mouse

Species/Strain	CD-1 mouse					
Sex/ No. of Animals	M/42	F/42	M/42	F/42	M/42	F/42
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	95% PEG400, 5% Tween80					
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h on Day1 and Day87					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	100	100	300	300	1000	1000
Analyte	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters						
	Day1					
T _{max} (h)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
C _{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
AUC _{last} (ng•h/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
t _{1/2} (h)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Day87					
T _{max} (h)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
C _{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
AUC _{last} (ng•h/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
t _{1/2} (h)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.5. B 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

マウス 3 カ月間反復投与試験 (TK 試験) (続き)

Report Number: SA-PSI-7977-09-0008

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Three-Month Oral GLP Toxicity Study of PSI-7977 in the Mouse

Species/Strain	CD-1 mouse					
Sex/ No. of Animals	M/42	F/42	M/42	F/42	M/42	F/42
Dose (mg/kg)	100	100	300	300	1000	1000
Analyte	GS-566500	GS-566500	GS-566500	GS-566500	GS-566500	GS-566500
PK Parameters						
	Day1					
T _{max} (h)	1	1	1	1	2	1
C _{max} (ng/mL)	1805	1504	5230	5173	11201	11756
AUC _{last} (ng•h/mL)	8549	6274	24600	20385	66611	65363
t _{1/2} (h)	ND	2.3	3.4	2.5	2.5	2.0
	Day87					
T _{max} (h)	1	1	2	1	2	1
C _{max} (ng/mL)	1219	2919	2821	5637	9053	21683
AUC _{last} (ng•h/mL)	4349	6838	11916	20984	48065	67068
t _{1/2} (h)	3.7	1.9	2.1	1.6	2.5	2.7

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.5. B 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

マウス 3 カ月間反復投与試験 (TK 試験) (続き)

Report Number: SA-PSI-7977-09-0008

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Three-Month Oral GLP Toxicity Study of PSI-7977 in the Mouse

Species/Strain	CD-1 mouse					
Sex/ No. of Animals	M/42	F/42	M/42	F/42	M/42	F/42
Dose (mg/kg)	100	100	300	300	1000	1000
Analyte	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007
PK Parameters						
	Day1					
T _{max} (h)	1	2	4	2	8	4
C _{max} (ng/mL)	4368	5829	9773	15613	13687	23373
AUC _{last} (ng•h/mL)	24740	64558	71264	145456	136064	249880
t _{1/2} (h)	3.0	2.7	3.7	8.0	ND	3.7
	Day87					
T _{max} (h)	2	2	2	2	4	2
C _{max} (ng/mL)	3594	9931	14982	16125	21864	31948
AUC _{last} (ng•h/mL)	23706	84918	81530	161118	224314	361242
t _{1/2} (h)	6.6	6.8	6.3	11.7	ND	ND

AUC = area under the plasma concentration-time curve; BLQ = below the lower limit of quantitation (lower limit of quantitation in plasma for Sofosbuvir: 5 ng/mL); C_{max} = maximum plasma concentration; M = male; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5. C 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

ラット 6 カ月間反復投与試験 (TK 試験)

Report Number: SA-PSI-7977-10-0004

Location: [4.2.3.2.6](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: A six-month oral GLP toxicity study of PSI-7977 in rats, with a 4-week recovery period

Species/Strain	Sprague-Dawley rat					
Sex/ No. of Animals	M/9	F/9	M/9	F/9	M/9	F/9
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation			95% PEG400, 5% Tween80			
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h on Day1 and Day178					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	20	20	100	100	500	500
Analyte	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters						
	Day1					
T _{max} (h)	4	2	4	6	8	6
C _{max} (ng/mL)	303	189	1445	667	5309	4470
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	3661	1920	15382	7407	58922	37211
t _{1/2} (h)	15.3	ND	10.3	ND	ND	11.2
	Day178					
T _{max} (h)	4	1	4	2	8	4
C _{max} (ng/mL)	274	403	1226	1192	3786	4733
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	3944	3503	18704	13128	66460	65508
t _{1/2} (h)	19.5	ND	ND	ND	ND	14.2

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F: female; M = male; ND: not determined; PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5. D 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

イヌ 9 カ月間反復投与試験 (TK 試験)

Report Number: SA-PSI-7977-10-0003 Location: [4.2.3.2.10.2](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Final Report: A Nine Month Oral GLP Toxicity Study of PSI-7977 in Beagle Dogs with a Six-Month Interim Analysis and Recovery Periods (Nine-Month Sacrifice)

Species/Strain	Beagle dog					
Sex/ No. of Animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	Gelatin capsule					
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h on Day1 and Day273					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	20	20	100	100	500	500
Analyte	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	Day1					
T _{max} (h)	3.0	2.7	2.3	2.3	5.0	3.3
C _{max} (ng/mL)	2673	2737	10161	11929	28158	19979
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	26860	23028	98169	103916	322892	188362
t _{1/2} (h)	6.1	5.4	4.5	5.3	6.6	6.6
	Day273					
T _{max} (h)	3.3	4.7	3.7	4.7	4.0*	4.3
C _{max} (ng/mL)	3756	2724	6604	9894	15036*	20084
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	26623	26954	76284	103675	175387*	215155
t _{1/2} (h)	5.4	5.2	6.9	5.0	5.5*	6.1

*: n=5, AUC = area under the plasma concentration-time curve; Cmax = maximum plasma concentration; F: female; M = male; t1/2 = estimated elimination half-life; Tmax = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 E 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

ウサギ胚・胎児発生試験（TK 試験）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0005

Location: [4.2.3.5.2.3](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: An Oral Range-Finding Study of PSI-7977 in Pregnant Rabbits

Species/Strain	New Zealand White Rabbit			
Sex/ No. of Animals	F/3	F/3	F/3	F/3
Feeding Condition	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted
Vehicle/Formulation	PEG 400			
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h on GD6 and GD19			
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	9	30	90	300
Analyte	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19			
T _{max} (h)	2.0/1.0	1.0/1.0	1.0/1.5	1.7/1.5
C _{max} (ng/mL)	6.96/19.5	48.9/183	214/469	611/1971
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	65.7/87.0	97.4/506	451/1417	1694/7258
t _{1/2} (h)	ND/ND	ND/1.2	ND/1.0	1.9/2.9
N*	1/1	2/2	2/2	3/2

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 E 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

ウサギ胚・胎児発生試験（TK 試験）（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0005

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: An Oral Range-Finding Study of PSI-7977 in Pregnant Rabbits

Dose (mg/kg)	9	30	90	300
Analyte	GS-566500	GS-566500	GS-566500	GS-566500
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19			
T _{max} (h)	2.0/1.0	1.0/1.5	1.0/3.0	1.7/1.5
C _{max} (ng/mL)	293/272	1650/1296	5861/2983	12507/11954
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	1553/1299	4661/4200	14919/11199	45375/45559
t _{1/2} (h)	1.9/1.5	1.7/1.4	1.7/ND	2.8/3.3
N*	1/1	2/2	2/2	3/2

Analyte	GS-331007	GS-331007	GS-331007	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19			
T _{max} (h)	4.0/2.0	1.5/1.5	1.5/8.0	10.0/1.5
C _{max} (ng/mL)	186/277	647/757	2567/3208	5435/9947
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	2749/4426	6649/8717	21891/47434	85933/119964
t _{1/2} (h)	18.8/ND	ND/ND	ND/25.6	ND/ND
N*	1/1	2/2	2/2	3/2

*: Only pregnant rabbits were included in the calculation; AUC = area under the plasma concentration-time curve; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; GD = Gestation day; ND = Not determined (r²<0.85 or insufficient data); t_{1/2} = estimated elimination half-life; Tmax = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 F 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

ウサギ胚・胎児発生試験（TK 試験）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0006

Location: [4.2.3.5.2.4](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: An Oral GLP Study of the Effects of PSI-7977 on Embryo/Fetal Development in Rabbits

Species/Strain	New Zealand White Rabbit		
Sex/ No. of Animals	F/3	F/3	F/3
Feeding Condition	Non-Fasted	Non-Fasted	Non-Fasted
Vehicle/Formulation	PEG 400		
Method of Administration	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h on GD6 and GD19		
Sample	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	30	90	300
Analyte	Sofosbuvir	Sofosbuvir	Sofosbuvir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19		
T _{max} (h)	1.0/2.0	1.3/1.3	2.0/1.3
C _{max} (ng/mL)	53.8/133	302/817	892/1887
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	133/590	623/2098	2638/8657
t _{1/2} (h)	ND/2.3	ND/2.6	1.3/5.1
N*	2/2	3/3	3/3

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.5 F 薬物動態試験：吸収：反復（続き）

ウサギ胚・胎児発生試験（TK 試験）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0006

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: An Oral GLP Study of the Effects of PSI-7977 on Embryo/Fetal Development in Rabbits

Species/Strain	New Zealand White Rabbit		
Dose (mg/kg)	30	90	300
Analyte	GS-566500	GS-566500	GS-566500
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19		
T _{max} (h)	1.5/1.5	2.0/1.3	2.0/1.3
C _{max} (ng/mL)	1684/778	5841/5991	16491/11349
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	6601/3705	20517/24681	58929/68592
t _{1/2} (h)	1.5/1.9	2.9/2.2	2.9/4.0
N*	2/2	3/3	3/3
Analyte	GS-331007	GS-331007	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	GD6/GD19		
T _{max} (h)	4.0/3.0	2.7/7.0	5.3/6.7
C _{max} (ng/mL)	676/637	2459/3886	6599/22196
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	9703/8085	28469/54495	85871/200046
t _{1/2} (h)	ND/ND	11.8/ND	27.9/57.7
N*	2/2	3/3	3/3

*: Only pregnant rabbits were included in the calculation; AUC = area under the plasma concentration-time curve; Cmax = maximum plasma concentration; F = female; GD = Gestation day; ND = Not determined ($r^2 < 0.85$ or insufficient data); t_{1/2} = estimated elimination half-life; Tmax = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布

SD ラットでの組織内分布

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005 Location: [4.2.2.3.1](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Species/Strain:	Sprague-Dawley Rat
Sex/ No. of Animals:	Male / 5 (1 per time point)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)
Method of Administration:	Oral Gavage
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol
Sampling Time:	1, 8, 24, 48, and 144 h postdose
Assay:	Quantitative Whole Body Autoradiography

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6. 薬物動態試験：分布（続き）

SD ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)				
		1 h	8 h	24 h	48 h	144 h
Vascular/Lymphatic	Blood LSC	1.247	0.648	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (kidney)	3.884	3.318	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (liver)	5.054	3.796	0.076	BLQ	BLQ
	Blood (dorsal aorta)	3.803	0.950	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (vena cava)	NI	NI	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (pleural cavity)	1.979	0.940	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (cardiac)	3.979	1.089	BLQ	BLQ	BLQ
	Bone Marrow	2.433	3.863	BLQ	BLQ	BLQ
	Lymph Node	9.008	10.120	0.256	0.094	BLQ
	Spleen	10.327	14.523	0.223	0.101	BLQ
Excretory/Metabolic	Thymus	4.618	12.132	0.248	0.117	BLQ
	Bile (in duct)	NI	6.064	BLQ	BLQ	BLQ
	Renal Cortex	9.121	7.359	0.217	0.084	BLQ
	Renal Medulla	8.730	4.105	BLQ	BLQ	BLQ
	Liver	23.628	10.277	0.688	0.178	BLQ
	Urinary Bladder	5.114	2.068	2.901	2.898	BLQ
	Urinary Bladder (contents)	18.719	55.913	5.058	0.967	0.790

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

SD ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)				
		1 h	8 h	24 h	48 h	144 h
Central Nervous System	Brain (cerebrum)	0.202	1.005	BLQ	BLQ	BLQ
	Brain (cerebellum)	0.159	0.892	BLQ	BLQ	BLQ
	Brain (medulla)	0.175	0.618	BLQ	BLQ	BLQ
	Spinal Cord	0.149	0.453	BLQ	BLQ	BLQ
Endocrine	Adrenal Gland	2.616	2.320	BLQ	BLQ	BLQ
	Pituitary Gland	2.288	1.539	BLQ	BLQ	BLQ
	Thyroid	5.003	4.151	BLQ	BLQ	BLQ
Secretory	Harderian Gland	1.245	1.192	BLQ	BLQ	BLQ
	Pancreas	2.661	1.868	BLQ	BLQ	BLQ
	Salivary Gland	2.571	2.101	BLQ	BLQ	BLQ
Fatty	Adipose (brown)	3.144	4.304	BLQ	BLQ	BLQ
	Adipose (white)	0.357	0.641	BLQ	BLQ	BLQ
Dermal	Skin (non-pigmented)	1.853	2.759	BLQ	BLQ	BLQ
Reproductive	Epididymis	1.504	1.510	BLQ	BLQ	BLQ
	Prostate Gland	0.856	0.924	BLQ	BLQ	BLQ
	Seminal Vesicles	0.379	0.297	BLQ	BLQ	BLQ
	Testis	0.419	1.033	BLQ	BLQ	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

SD ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)				
		1 h	8 h	24 h	48 h	144 h
Skeletal/Muscular	Bone	0.304	0.108	BLQ	BLQ	BLQ
	Heart (myocardium)	5.040	3.133	BLQ	BLQ	BLQ
	Skeletal Muscle	0.746	1.550	BLQ	BLQ	BLQ
Respiratory Tract	Lung	9.327	4.622	0.084	BLQ	BLQ
Alimentary Canal	Cecum	67.134	184.615	1.485	0.604	BLQ
	Cecum (contents)	107.902	128.577	11.604	3.716	0.102
	Colon	5.396	9.926	0.199	BLQ	BLQ
	Colon (contents)	BLQ	127.734	12.698	BLQ	0.215
	Esophagus	7.239	3.061	BLQ	BLQ	BLQ
	Large Intestine	6.290	157.564	0.312	0.243	BLQ
	Large Intestine (contents)	0.263	112.071	7.819	1.121	0.143
	Stomach (gastric mucosa)	77.939	23.517	BLQ	BLQ	BLQ
	Stomach (contents)	108.552	17.148	0.401	0.247	0.168
	Small Intestine	395.694	9.263	3.554	0.488	BLQ
Ocular	Small Intestine (contents)	121.802	4.189	0.527	0.215	BLQ
	Eye (uveal tract)	0.849	1.155	BLQ	BLQ	BLQ
	Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ; NI = tissue not identified on whole body section; LLOQ = 0.00075540 μCi/g/0.01034 μCi/μg = 0.073 μg equivalent/g tissue; PEG400= 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400; ULOQ = 6.52476712 μCi/g / 0.01034 μCi/μg = 631.022 μg equivalent/g tissue

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

Long-Evans ラットでの組織内分布

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005 Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Species/Strain:	Long Evans Rat
Sex/ No. of Animals:	Male / 9 (1 per time point)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)
Method of Administration:	Oral Gavage
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol
Sampling Time:	1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 96 and 168 h postdose
Assay:	Quantitative Whole Body Autoradiography

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

Long-Evans ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)								
		1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	96 h	168 h
Vascular/Lymphatic	Blood LSC	0.541	1.016	1.188	1.572	0.159	0.157	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (kidney)	1.649	4.495	3.595	6.668	0.563	0.637	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (liver)	5.145	5.944	8.170	11.456	1.344	0.836	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (dorsal aorta)	1.435	5.587	3.354	4.716	0.209	0.307	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (vena cava)	1.121	5.664	NI	6.682	NI	NI	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (pleural cavity)	0.786	1.443	1.772	2.303	0.199	0.333	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (cardiac)	1.668	6.546	4.977	5.615	0.200	0.273	BLQ	BLQ	BLQ
	Bone Marrow	1.894	6.484	9.785	8.761	0.791	1.074	BLQ	BLQ	BLQ
	Lymph Node	3.578	9.035	19.276	18.923	2.965	2.354	BLQ	BLQ	BLQ
	Spleen	6.488	18.160	23.875	28.262	2.831	3.692	BLQ	BLQ	BLQ
Excretory/Metabolic	Thymus	2.679	10.498	18.100	18.952	1.422	1.932	BLQ	BLQ	BLQ
	Bile (in duct)	NI	115.961	23.617	37.563	3.357	2.262	BLQ	BLQ	BLQ
	Renal Cortex	6.653	9.662	13.392	13.412	2.662	2.334	BLQ	BLQ	BLQ
	Renal Medulla	6.004	10.876	7.860	9.907	1.376	1.234	BLQ	BLQ	BLQ
	Liver	13.438	30.046	19.933	35.888	4.571	3.683	0.256	0.107	BLQ
	Urinary Bladder	1.950	7.323	10.831	4.758	20.283	3.880	BLQ	BLQ	BLQ
	Urinary Bladder (contents)	6.980	35.432	55.408	44.684	30.557	57.370	0.350	0.687	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

Long-Evans ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)								
		1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	96 h	168 h
Central Nervous System	Brain (cerebrum)	0.097	0.314	0.550	0.930	0.255	0.194	BLQ	BLQ	BLQ
	Brain (cerebellum)	0.095	0.371	0.737	0.946	0.289	0.216	BLQ	BLQ	BLQ
	Brain (medulla)	0.100	0.202	0.376	0.644	0.194	0.174	BLQ	BLQ	BLQ
	Spinal Cord	0.096	0.201	0.387	0.530	0.114	0.081	BLQ	BLQ	BLQ
Endocrine	Adrenal Gland	1.650	3.121	5.272	4.049	0.610	0.725	BLQ	BLQ	BLQ
	Pituitary Gland	1.092	3.325	2.473	3.347	0.164	0.279	BLQ	BLQ	BLQ
	Thyroid	1.753	4.389	4.178	4.618	0.430	0.586	BLQ	BLQ	BLQ
Secretory	Harderian Gland	0.779	3.237	1.715	2.312	0.253	0.383	BLQ	BLQ	BLQ
	Pancreas	1.295	2.421	3.023	3.900	0.618	0.488	BLQ	BLQ	BLQ
	Salivary Gland	1.085	2.301	3.412	3.357	0.502	0.357	BLQ	BLQ	BLQ
Fatty	Adipose (brown)	1.100	2.896	5.650	5.171	0.604	0.546	BLQ	BLQ	BLQ
	Adipose (white)	0.174	0.393	0.473	0.706	BLQ	0.091	BLQ	BLQ	BLQ
Dermal	Skin (pigmented)	0.593	2.199	2.840	3.663	0.605	0.409	BLQ	BLQ	BLQ
	Skin (non-pigmented)	0.785	2.160	2.680	2.940	0.507	0.433	BLQ	BLQ	BLQ
Reproductive	Epididymis	0.577	1.087	1.926	1.869	0.254	0.233	BLQ	BLQ	BLQ
	Prostate Gland	0.914	0.967	1.309	1.785	0.236	0.220	BLQ	BLQ	BLQ
	Seminal Vesicles	0.138	0.505	1.324	0.715	0.344	0.098	BLQ	BLQ	BLQ
	Testis	0.272	0.677	1.217	1.648	0.367	0.166	BLQ	BLQ	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.6 薬物動態試験：分布（続き）

Long-Evans ラットでの組織内分布（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-09-0005

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Quantitative Tissue Distribution of Drug-Related Material Using Whole-Body Autoradiography Following a Single 20 mg/kg Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977 to Male Long-Evans and Sprague Dawley Rats

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)								
		1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	48 h	96 h	168 h
Skeletal/Muscular	Bone	0.119	0.223	0.230	0.176	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Heart (myocardium)	2.340	3.371	4.564	4.772	0.960	0.821	BLQ	BLQ	BLQ
	Skeletal Muscle	0.472	1.320	1.794	2.117	0.338	0.250	BLQ	BLQ	BLQ
Respiratory Tract	Lung	2.462	7.084	7.820	6.903	0.886	0.651	BLQ	BLQ	BLQ
Alimentary Canal	Cecum	9.752	3.913	278.873	428.486	78.322	194.126	BLQ	BLQ	BLQ
	Cecum (contents)	139.323	155.973	118.579	150.892	131.720	140.102	0.344	BLQ	BLQ
	Colon	2.726	5.428	13.043	9.407	2.996	7.084	0.213	BLQ	BLQ
	Colon (contents)	0.077	NI	31.759	7.282	NI	126.861	0.837	0.191	BLQ
	Esophagus	1.600	3.193	5.767	5.466	0.915	0.616	BLQ	BLQ	BLQ
	Large Intestine	2.199	8.616	24.895	172.591	24.198	12.247	BLQ	BLQ	BLQ
	Large Intestine (contents)	BLQ	0.083	19.142	85.010	135.822	132.773	1.234	0.138	BLQ
	Stomach (gastric mucosa)	4.762	4.413	8.754	11.045	1.226	0.803	BLQ	BLQ	BLQ
	Stomach (contents)	215.972	62.527	117.920	136.935	13.067	215.626	BLQ	BLQ	BLQ
	Small Intestine	19.427	420.485	228.789	127.238	6.613	5.400	0.362	BLQ	BLQ
Ocular	Small Intestine (contents)	94.876	159.231	76.722	78.096	21.895	18.615	0.131	BLQ	BLQ
	Eye (uveal tract)	0.966	2.600	2.506	2.837	0.342	0.323	BLQ	BLQ	BLQ
	Eye (lens)	0.083	0.108	BLQ	BLQ	0.075	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ; NI = tissue not identified on whole body section; LLOQ = 0.00075540 μCi/g / 0.01034 μCi/μg = 0.073 μg equivalent/g tissue; PEG400 = 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400; ULQ = 6.52476712 μCi/g / 0.01034 μCi/μg = 631.022 μg equivalent/g tissue

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.7 薬物動態試験：血漿タンパク結合

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトでのタンパク結合

Report Number: PC-PSI-7977-11-0001

Location: [4.2.2.3.2](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-331007

Report Title: *In vitro* Protein Binding of PSI-7977 and PSI-6206 in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Plasma

Study System:	CD-1 mouse, Sprague-Dawley rat, New Zealand White rabbit, Beagle dog, and human			
Method:	Ultrafiltration at 37°C with 30,000 molecular weight cut-off dialysis membranes			
Species	Fraction Unbound (%) ^a		Bound (%)	
	SOF	GS-331007	SOF	GS-331007
Mouse	NA ^b	95.8	NA	4.2
Rat	NA ^b	95.9	NA	4.1
Rabbit	NA ^b	97.7	NA	2.3
Dog	41.0	96.9	59.0	3.1
Human	38.2	92.9	61.8	7.1

a: Test concentration was at 1 µg/mL in triplicates

b: NA = not applicable. Protein binding in mouse, rat and rabbit plasma could not be determined due to SOF instability

SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

ラットでの胎盤通過及び乳汁移行（非妊娠ラット）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008 Location: [4.2.2.3.3](#) Test Article: [¹⁴C] Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Species:	Sprague Dawley Rat
Sex/ No. of Animals:	Female / 4 (1 per time point)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)
Method of Administration:	Oral Gavage
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol
Sampling Time:	2, 8, 24 and 168 h postdose
Assay:	Quantitative Whole Body Autoradiography

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの胎盤通過及び乳汁移行（非妊娠ラット）（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C] Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)			
		2 h	8 h	24 h	168 h
Vascular/Lymphatic	Plasma	1.394	0.385	0.020	BLQ
	Blood	0.687	0.297	BLQ	BLQ
	Bone Marrow	1.516	0.659	0.074	BLQ
	Lymph Node	3.222	1.809	0.075	BLQ
	Spleen	4.827	2.042	0.090	BLQ
	Thymus	2.350	2.576	0.068	BLQ
Excretory/Metabolic	Bile (in duct)	1.331	1.912	0.433	BLQ
	Kidney Cortex	12.667	2.824	0.198	BLQ
	Kidney Medulla	12.343	2.448	0.170	BLQ
	Liver	13.305	8.064	1.011	0.055
	Urinary Bladder	3.006	0.664	0.092	BLQ
	Urinary Bladder (contents)	62.907	65.529	1.418	0.076
Central Nervous System	Brain (cerebrum)	0.107	0.238	BLQ	BLQ
	Brain (cerebellum)	0.093	0.210	BLQ	BLQ
	Brain (medulla)	0.063	0.202	BLQ	BLQ
	Spinal Cord	0.087	0.147	BLQ	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの胎盤通過及び乳汁移行（非妊娠ラット）（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C] Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)			
		2 h	8 h	24 h	168 h
Endocrine	Adrenal Gland (cortex)	0.739	0.338	0.044	BLQ
	Adrenal Gland (medulla)	0.652	0.316	BLQ	BLQ
	Pituitary Gland	0.456	0.266	BLQ	BLQ
	Thyroid	0.771	0.683	BLQ	BLQ
Secretory	Harderian Gland	0.629	0.317	BLQ	BLQ
	Mammary Gland Region	0.760	0.316	BLQ	BLQ
	Pancreas	0.818	0.410	BLQ	BLQ
	Salivary Gland	0.735	0.440	BLQ	BLQ
Fatty	Adipose (brown)	0.924	0.621	BLQ	BLQ
	Adipose (white)	0.296	0.105	BLQ	BLQ
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.726	0.481	BLQ	BLQ
Reproductive	Ovary	1.197	0.581	BLQ	BLQ
	Uterus	1.792	6.115	BLQ	BLQ
	Vagina	2.043	0.688	BLQ	BLQ
Skeletal/Muscular	Bone	0.047	BLQ	BLQ	BLQ
	Heart	0.804	0.332	BLQ	BLQ
	Skeletal Muscle	0.388	0.336	BLQ	BLQ
Respiratory Tract	Lung	1.243	0.593	0.040	BLQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの胎盤通過及び乳汁移行（非妊娠ラット）（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C] Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Tissue Type	Tissues/Organs	Tissue Concentration of total Radioactivity (μg Equivalents/g Tissue)			
		2 h	8 h	24 h	168 h
Alimentary Canal	Cecum	4.080	7.420	0.040	BLQ
	Cecum (contents)	128.900	126.326	1.466	BLQ
	Esophagus	1.025	0.541	6.009	BLQ
	Large Intestine	1.670	0.813	BLQ	BLQ
	Large Intestine (contents)	0.055	112.086	1.878	0.051
	Oral Mucosa	1.385	0.325	15.005	BLQ
	Stomach (gastric mucosa)	2.255	0.702	BLQ	BLQ
	Stomach (contents)	196.909	36.425	0.149	0.061
	Small Intestine	29.083	7.264	0.301	BLQ
	Small Intestine (contents)	47.542	1.316	2.089	BLQ
Ocular	Eye (uveal tract)	0.513	0.400	0.566	BLQ
	Eye (lens)	0.134	0.113	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ; LLOQ = 0.040 μg equivalent/g tissue; PEG400 = 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400; ULOQ = 638.292 μg equivalent/g tissue

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの胎盤通過

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Placental Transfer

Species:	Sprague Dawley Rats							
Gestation Day / No. of Animals:	13 / 8							
Vehicle/Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)							
Method of Administration:	Oral Gavage							
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)							
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol							
Assay:	Quantitative Whole Body Autoradiography							
Time (h):	1, 4, 8, 24, 48, 72, 96, and 120 h postdose							
Concentration / Amount (µg equiv./g)	1 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Maternal Plasma:	1.270	1.127	0.133	0.023	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Blood	0.992	0.857	0.146	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Placenta:	1.024	2.313	0.545	0.078	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Amniotic Fluid:	0.895	5.721	0.287	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fetal Blood	0.359	2.026	0.342	0.237	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの乳汁移行

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Excretion into Milk

Species:	Sprague-Dawley Rats			
Postpartum Day / No. of Animals:	2 / 19 (3/time point)			
Feeding Condition:	Fasted			
Vehicle/Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG 400 (v/v)			
Method of Administration:	Oral Gavage			
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)			
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol			
Assay:	Liquid Scintillation Counting			
Time (h):	1, 6, 24, and 72 h post dose			
Concentration / Amount (µg equiv./g)	1 h	6 h	24 h	72 h
Milk:	0.514	0.198	0.030	ND
Plasma:	3.623	0.676	0.039	ND
Milk/Plasma:	0.1	0.3	0.8	ND

ND: not determined

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの乳汁移行（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Excretion into Milk

Species:	Sprague-Dawley Rats						
Postpartum Day / No. of Animals:	2 / 19 (3/time point)						
Feeding Condition:	Fasted						
Vehicle/Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG 400 (v/v)						
Method of Administration:	Oral Gavage						
Dose:	20 mg/kg (~200 µCi/kg)						
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol						
Assay:	Quantitative Whole Body Autoradiography						
Time (h):	6, 24, 48, 72, 96, 120 and 168 h post dose						

Concentration / Amount (µg equiv./g)	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	168 h
Plasma	0.700	0.188	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Blood	0.578	0.135	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Liver	16.959	1.235	0.132	0.061	0.056	0.059	BLQ
Kidney Cortex	6.826	1.137	0.091	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Kidney Medulla	6.478	1.153	0.077	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Lung	1.342	0.203	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Stomach (Contents)	21.399	16.005	0.410	0.266	BLQ	BLQ	BLQ
Large Intestine (Contents)	160.732	11.828	2.034	0.892	0.102	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.8 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

ラットでの乳汁移行（続き）

Report Number: SA-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Determination of Placental and Milk Transfer in Female Sprague Dawley Rats Following a Single Oral Gavage Administration of [¹⁴C]PSI-7977 at 20 mg/kg

Excretion into Milk

Concentration / Amount (µg equiv./g)	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	168 h
Small Intestine (Contents)	11.743	1.634	0.070	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pup Liver	BLQ	0.061	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pup Kidney	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pup Lung	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pup Stomach Contents	0.131	0.273	0.040	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pup GI Contents	0.145	0.837	1.255	0.639	0.247	BLQ	BLQ

BLQ = value is below the LLOQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.9 薬物動態試験：その他の分布試験

該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 A 薬物動態試験：代謝：*In vivo*

マウスでの代謝

Report Number: PC-PSI-7977-11-0008	Location: 4.2.2.4.1	Test Article: [¹⁴ C]Sofosbuvir
Report Title: Metabolite Identification and Profiling of [¹⁴ C]PSI-7977 in Plasma, Urine, and Feces of CD-1 Mice		
Species	CD-1 Mouse	
Sex/ No. of Animals	Male/9 ^a and 48 ^b	
Feeding Condition	Not Fasted	
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80	
Method of Administration	Oral Gavage	
Sampling Time	Plasma: 0.25, 1, 2, 4, 8, 24 h ^b Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24 h and 24 h intervals to 168 h ^a Feces: Pre-dose, 0-24 h and 24 h intervals to 168 h ^a Cage rinse: 24 h intervals to 168 h ^a	
Dose	20 mg/kg (200 µCi/kg)	
Specific Activity	56.7 mCi/mmol	
Analyte/ Assay	LC/MS/RFD	

a: Pooled specimens (n=3) were collected for analysis, b: Eight animals per sample time, samples pooled for analysis by time point

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 A 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

マウスでの代謝 (続き)

Report Number: PC-PSI-7977-11-0008

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

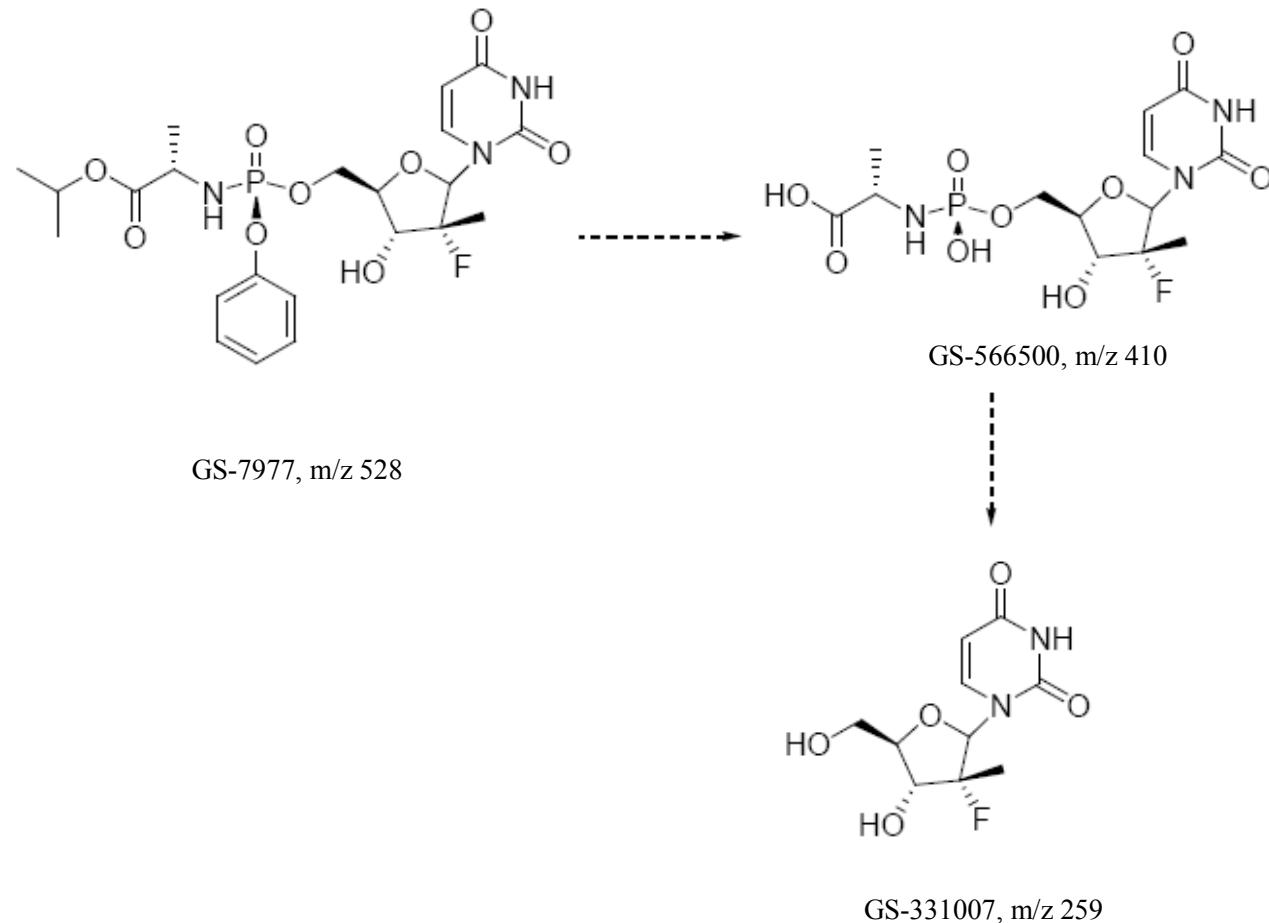
Report Title: Metabolite Identification and Profiling of [¹⁴C]PSI-7977 in Plasma, Urine, and Feces of CD-1 Mice

Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose (AUC: $\mu\text{g equiv./g}\cdot\text{h}$)			
	GS-331007	GS-566500	Total
AUC	17.77	2.77	20.54
% of Total	86.5	13.5	100
% Dose Administered in Urine			
Time (h)	GS-331007	GS-566500	Total
0-8	34.40	7.69	42.10
8-24	17.86	2.58	20.44
24-48	1.42	0.15	1.58
48-72	0.51	0.03	0.54
72-168	0.99	BLQ	0.99
Total	55.18	10.45	65.63
% Dose Administered in Feces			
0-24	13.00	BLQ	13.00
24-48	0.58	0.03	0.62
48-120	0.51	BLQ	0.51
Total	14.09	0.03	14.12

BLQ = value is below the LLOQ

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

マウスでの代謝経路



2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 B 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

ラットでの代謝

Report Number: CH-PSI-7977-09-0002	Location: 4.2.2.4.2	Test Article: [¹⁴ C]Sofosbuvir
Report Title: Metabolite Identification and Profiling of [¹⁴ C]PSI-7977 in Plasma, Urine, Bile, Liver, and Feces of Male Sprague Dawley Rats		
Species	Sprague Dawley Rats (Intact)	Sprague Dawley Rats (Bile Duct Cannulated)
Sex/No. of Animals	Male/3 ^a and 18 ^b	Male/3 ^a and 18 ^b
Feeding Condition	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80	95% PEG 400, 5% Tween 80
Method of Administration	Oral Gavage	Oral Gavage
Sampling Time	Plasma and liver: 0.25, 1, 2, 4, 8, 24 h ^b Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24, 24 h intervals to 168 h Feces: Pre-dose, 0-24, 24 h intervals to 168 h	Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24, 24 h intervals to 96 h ^b Feces: Pre-dose, 0-24, 24 h intervals to 96 h Bile: Pre-dose, 0-8, 8-24, 24 h intervals to 96 h
Dose	20 mg/kg (200 µCi/kg)	
Specific Activity	56.7 mCi/mmol	
Assay	LC/MS/RFD	

a: Urine, feces and liver sample, b: Plasma sample, Three animals per sampling time

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 B 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

ラットでの代謝 (続き)

Report Number: CH-PSI-7977-09-0002

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

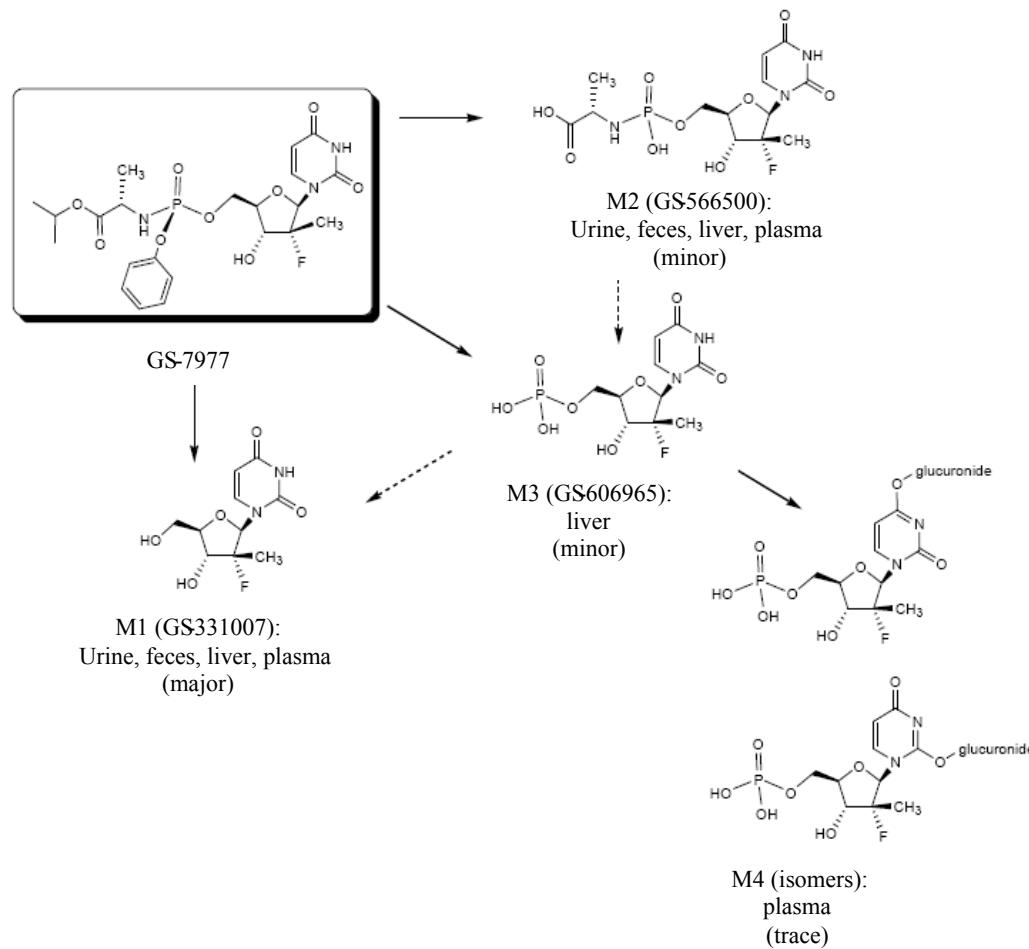
Report Title: Metabolite Identification and Profiling of [¹⁴C]PSI-7977 in Plasma, Urine, Bile, Liver, and Feces of Male Sprague Dawley Rats

	Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose (AUC: ng equiv./mL•h)					
	GS-331007	unknown	M4	GS-566500	Sofosbuvir	Total
AUC	18638	NA	NA	2349	NA	22139
% of Total	84.2	NA	NA	10.6	NA	100
% Dose Administered in Urine from Intact Rats						
Time Range	GS-331007	GS-566500	Sofosbuvir	Total		
Total of 0-168 h	61.1	11.1	NA	72.2		
% Dose Administered in Urine from Bile Duct Cannulated Rats						
Total of 0-96 h	49.6	13.5	NA	63.2		
% Dose Administered in Bile from Bile Duct Cannulated Rats						
Total of 0-96 h	0.1	5.5	NA	5.6		
% Dose Administered in Feces from Intact Rats						
Total of 0-168 h	18.4	NA	NA	18.4		
% Dose Administered in Feces from Bile Duct Cannulated Rats						
Total of 0-96 h	18.1	NA	NA	18.1		
% Dose Administered in Liver from Intact Rats						
Time Range	M3	GS-331007	M2	Sofosbuvir	Total	
Total of 0-24 h	0.2	4.8	0.9	NA	5.9	

NA : not applicable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

ラットでの推定代謝経路



2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

ラットでの血漿及び乳汁中代謝物

Report Number: PC-PSI-7977-11-0009 Location: [4.2.2.4.3](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Identification and Profiling of [¹⁴C]PSI-7977 and Metabolites in Plasma and Milk of Female Sprague Dawley Rats

Species:	Sprague Dawley Rat
Sex/ No. of Animals:	Female / 4-12 (1 per time point)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle / Formulation:	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)
Method of Administration:	Oral Gavage
Dose:	20 mg/kg (200 μ Ci/kg)
Specific Activity:	56.7 mCi/mmol
Sampling Time:	Group1 (Day13 of gestation): 1, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120 h (plasma) Group2 (non-pregnant): 2, 8, 24, 168 h (plasma) Group 3 (post-partum Day2) : 6, 24, 48, 72, 96, 120, 168 h (plasma) Group 4 (post-partum Day2) *: 1, 6, 24, 72 h (plasma) and 1, 6, 24, 72 h (milk)
Assay:	LC/MS/RFD

*: 3 dams at each time point

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 C 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

ラットでの血漿及び乳汁中代謝物 (続き)

Report Number: PC-PSI-7977-11-0009

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Identification and Profiling of [¹⁴C]PSI-7977 and Metabolites in Plasma and Milk of Female Sprague Dawley Rats

Group 1		Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose to Female Pregnant Rats (AUC: $\mu\text{g equiv}\cdot\text{h}/\text{mL}$)			
		GS-331007	M2	GS-566500	Total
AUC ₀₋₂₄		2.400	4.124	1.291	7.815
% of Total		30.71	52.77	16.52	100
Group 2		Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose to Female Non-pregnant Rats (AUC: $\mu\text{g equiv}\cdot\text{h}/\text{mL}$)			
AUC ₀₋₂₄		5.283	3.140	1.388	9.811
% of Total		53.85	32.00	14.15	100
Group 3		Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose to Postpartum Adult Female Rats ($\mu\text{g equiv}/\text{mL}$)			
6 h time point		0.413	0.287	BQL	0.700
24 h time point		BQL	0.188	BQL	0.188
Group 4		Radioactivity in Plasma ($\mu\text{g equiv}/\text{mL}$) and Milk ($\mu\text{g equiv}/\text{g}$) Following a 20 mg/kg Oral Dose to Postpartum Adult Female Rats			
		GS-331007 (Plasma/Milk)	M2 (Plasma/Milk)	GS-566500 (Plasma/Milk)	
1 h time point		1.185/0.291	1.97/0.140	0.468/0.083	
6 h time point		0.31/0.089	0.366/0.047	BQL/0.054	
24 h time point		BQL/BQL	BQL/BQL	BQL/BQL	

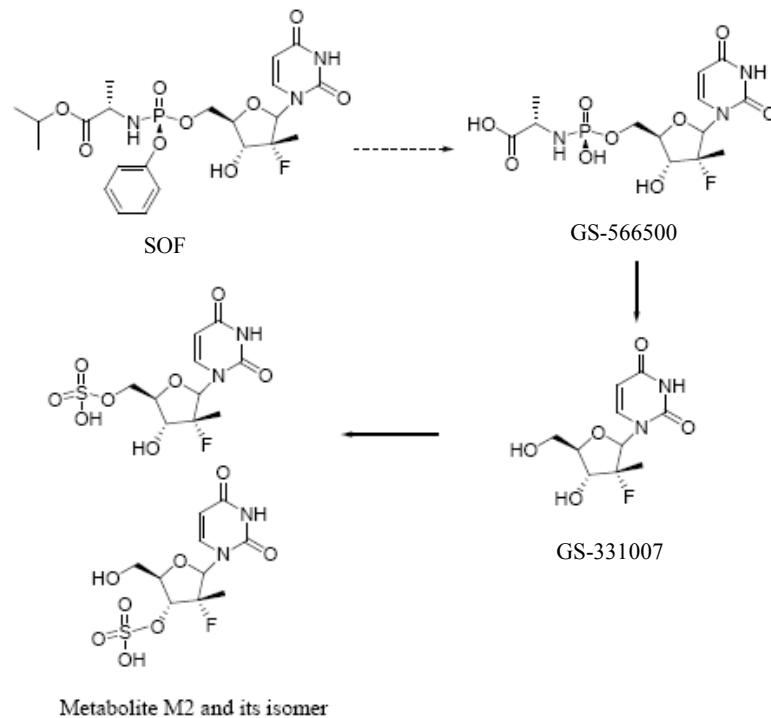
AUC = area under the plasma concentration-time curve, BQL = below quantifiable limit.

Sofosbuvir was not observed.

M2 isomer coeluted with GS-331007

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

ラットでの血漿及び乳汁中代謝物



SOF=sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 D 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

イヌでの代謝

Report Number: CH-PSI-7977-09-0001	Location: 4.2.2.4.4	Test Article: [¹⁴ C]Sofosbuvir
Report Title: Metabolite Profiling and Identification of [¹⁴ C]PSI-7977 in Plasma, Urine, and Feces of Male Beagle Dogs		
Species	Beagle Dog	
Sex/ No. of Animals	Male/3	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80	
Method of Administration	Oral Gavage	
Sampling Time	Plasma: 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h Urine: Pre-dose, 0-6, 6-12, 12-24, 24-48 and 24 h intervals to 168 h Feces: Pre-dose, 0-24 h and 24 h intervals to 168 h Cage rinse: 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 h	
Dose	20 mg/kg (\sim 100 μ Ci/kg)	
Specific Activity	56.7 mCi/mmol	
Analyte/ Assay	LC/MS/RFD	

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.10 D 薬物動態試験：代謝：*In vivo* (続き)

イヌでの代謝 (続き)

Report Number: CH-PSI-7977-09-0001

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

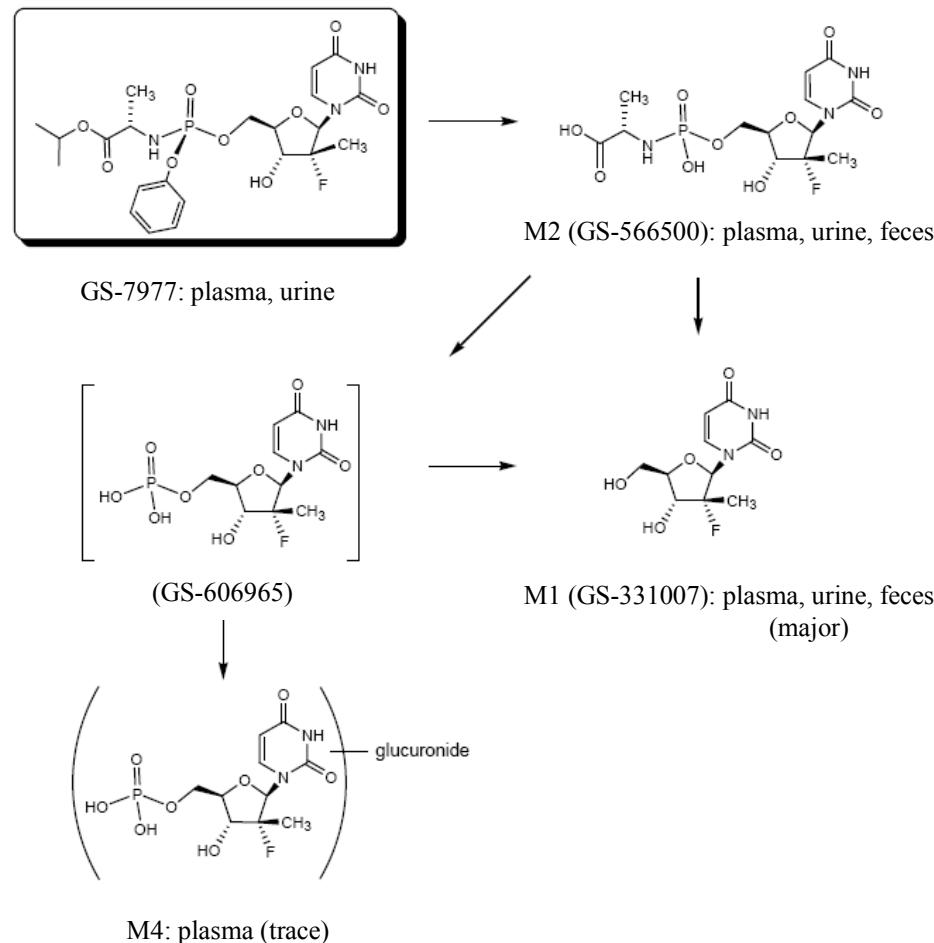
Report Title: Metabolite Profiling and Identification of [¹⁴C]PSI-7977 in Plasma, Urine, and Feces of Male Beagle Dogs

	Radioactivity in Plasma Following a 20 mg/kg Oral Dose (AUC: ng equiv./mL•h)				
	GS-331007	M4	GS-566500	Sofosbuvir	Total
AUC	32014	191	537	1544	34284
% of Total	93.4	0.5	1.6	4.5	100
% Dose Administered in Urine					
Time (h)	GS-331007	GS-566500	Sofosbuvir	Total	
0-6	10.8	33.9	ND	44.7	
6-12	16.2	1.2	ND	17.4	
12-24	10.1	ND	ND	10.1	
24-48	4.2	0.1	0.3	4.6	
48-168	3.7	0.04	ND	3.7	
Total	45.2	35.2	0.3	80.7	
% Dose Administered in Feces					
0-24	0.72	0.04	0.03	0.78	
24-48	0.65	0.03	ND	0.68	
48-168	0.33	ND	ND	0.34	
Total	1.70	0.07	0.03	1.79	

AUC = area under the plasma concentration-time curve; M4 = glucuronidated-GS-606965; ND: not detectable

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

イヌでの推定代謝経路



2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 A 薬物動態試験：代謝：*In vitro*

S9 分画及び血漿中安定性

Report Number: PC-PSI-7851-08-0013 Location: [4.2.2.4.5](#) Test Article: GS-9851

Report Title: PSI-7851 stability in human liver S9 fractions and plasma

	Stability, $t_{1/2}$ (h)
	GS-9851
Hepatic S9	0.39
Plasma	> 24

GS-9851 was incubated at 100 $\mu\text{mol/L}$ over 24 h at 37 °C. The final concentration of hepatic S9 was 4 mg/mL.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 B 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

S9 分画及び血漿中安定性

Report Number: PC-PSI-7977-09-0002 Location: [4.2.2.4.6](#) Test Article: Sofosbuvir, GS-491241

Report Title: Stability of PSI-7851 Diastereoisomers, PSI-7976 and PSI-7977, in Human Liver S9 Fractions and Plasma

	Stability, $t_{1/2}$ (h)	
	GS-491241	SOF
Hepatic S9	0.47	0.23
Plasma	> 24	> 24

SOF was incubated at 100 μ mol/L over 24 h at 37 °C. The final concentration of hepatic S9 was 4 mg/mL.

SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 C 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

血液中安定性 (ラット)

Report Number: PC-PSI-7851-08-0015 Location: [4.2.2.4.7](#) Test Article: GS-9851

Report Title: Stability study of PSI-7851 in the Whole Blood of Rat

Time of Incubation (min)	Concentration (ng/mL)	
	Stop solution-1*	Stop solution-2**
0	< LLOQ	27.8
15	< LLOQ	< LLOQ
30	< LLOQ	< LLOQ

Whole blood from Sprague-Dawley rats was spiked with 50 ng/mL GS-9851 and incubated at room temperature.

*: 100% acetonitrile; **: 0.5% formic acid in 100% acetonitrile

LLOQ = 1 ng/mL

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.11 D 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

血液中安定性 (マウス、イヌ、サル及びヒト)

Report Number: PC-PSI-7851-08-0016

Location: [4.2.2.4.8](#)

Test Article: GS-9851

Report Title: Stability Study of PSI-7851 in the Whole Blood of Human, Cynomolgus Monkey, Beagle Dog and CD-1 Mouse

Time of incubation (min)	Mean GS-9851 to Internal Standard Ratio			
	Human	Monkey	Dog	Mouse
0	3.43	4.86	5.08	0.24
15	3.64	4.79	5.31	0.00
30	3.67	4.59	4.99	0.00
60	4.03	3.99	6.07	NA

NA = not available

GS-9851 was incubated at 200 ng/mL, at 37 °C

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 E 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

CatA による加水分解

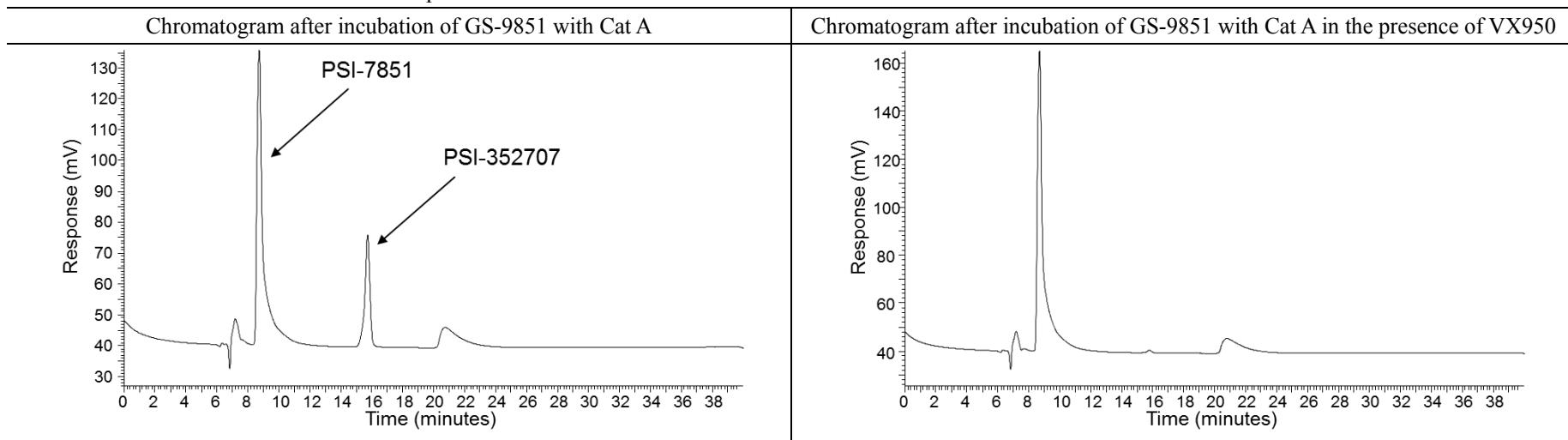
Report Number: PC-PSI-7851-08-0026

Location: [4.2.2.4.9](#)

Test Article: GS-9851

Report Title: Human Cathepsin A Hydrolyzes PSI-7851

Result GS-566500 was detected when GS-9851 was treated with human recombinant Cathepsin A. In the presence of a Cathepsin A inhibitor, VX950, conversion of GS-9851 to GS-566500 was not observed. A partially purified S9 fraction from primary human hepatocytes contained Cathepsin A.



GS-9851 (100 μ mol/L) was incubated with human recombinant Cathepsin A (1 μ g/mL) at 37°C for 1 hour in the presence or absence of VX950 which is an inhibitor of CathepsinA.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 F 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

CES1 及び 2 による加水分解

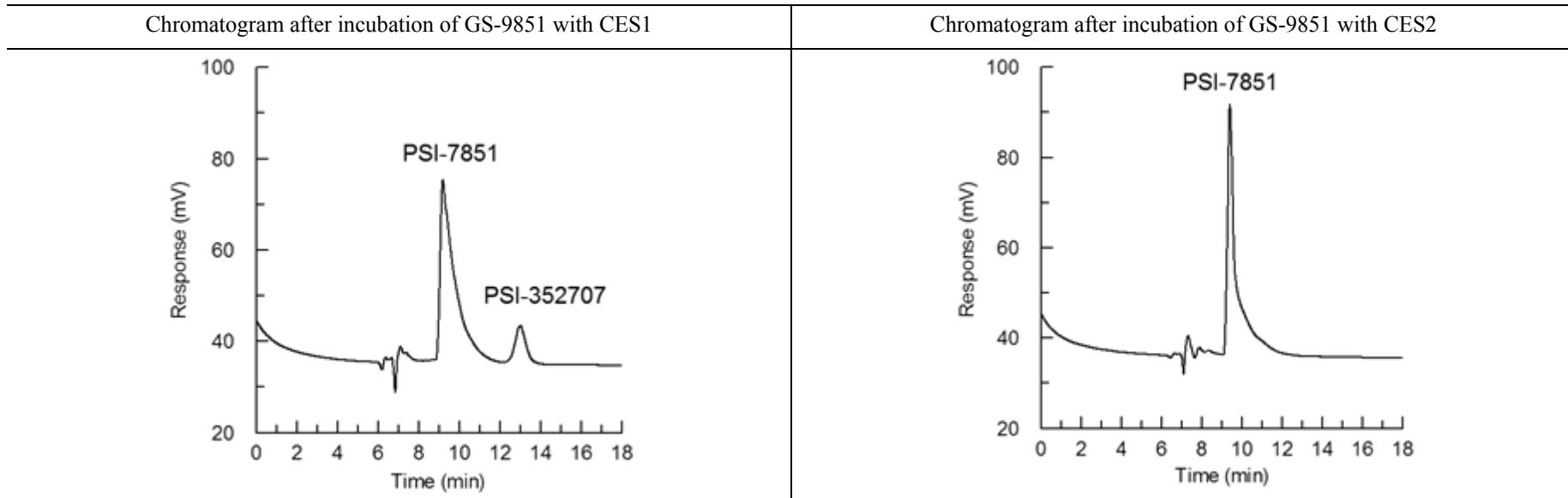
Report Number: PC-PSI-7851-09-0014

Location: [4.2.2.4.10](#)

Test Article: GS-9851

Report Title: Hydrolysis of PSI-7851-by human carboxylesterases 1 and 2

Result Incubation of 50 μ mol/L GS-9851 with recombinant CES1 resulted in formation of its hydrolyzed metabolite GS-566500 whereas CES2 was not able to hydrolyze GS-9851.



CES1: carboxylesterase1; CES2: carboxylesterase2

GS-9851 (50 μ mol/L) was incubated with human recombinant CES1 or CES2 (1 μ g/mL) at 37°C for 1 hour.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 G 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

CatA 及び CES1 での代謝

Report Number: PC-PSI-7977-09-0001 Location: [4.2.2.4.11](#) Test Article: Sofosbuvir and GS-491241

Report Title: Hydrolysis of PSI-7976 and PSI-7977, Diastereoisomers of PSI-7851, by Cathepsin A and Carboxylesterase 1

	Cathepsin A, Initial Rate (μmol/L/min)	Carboxylesterase 1, Initial Rate (μmol/L/min)
GS-491241	0.064 ± 0.004	0.526 ± 0.060
SOF	1.121 ± 0.232	0.521 ± 0.109

SOF and GS-491241 were incubated at 100 μmol/L in the presence of 1 μg/mL or 4 μg/mL of cathepsin A or carboxylesterase 1, respectively.

SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 H 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

Hint1 での代謝

Report Number: AD-334-2018

Location: [4.2.2.4.12](#)

Test Article: GS-566500

Report Title: Deamination of GS-566500 Cleavage by Recombinant Human Histidine-Triad Nucleotide Binding Protein 1(Hint1) and its Involvement in Intracellular Activation of GS-7977

	Apparent kcat/Km (L/μmol/min)
GS-566500	0.05

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 I 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

UMPK 及び NDPK での代謝

Report Number: AD-334-2019

Location: [4.2.2.4.13](#)

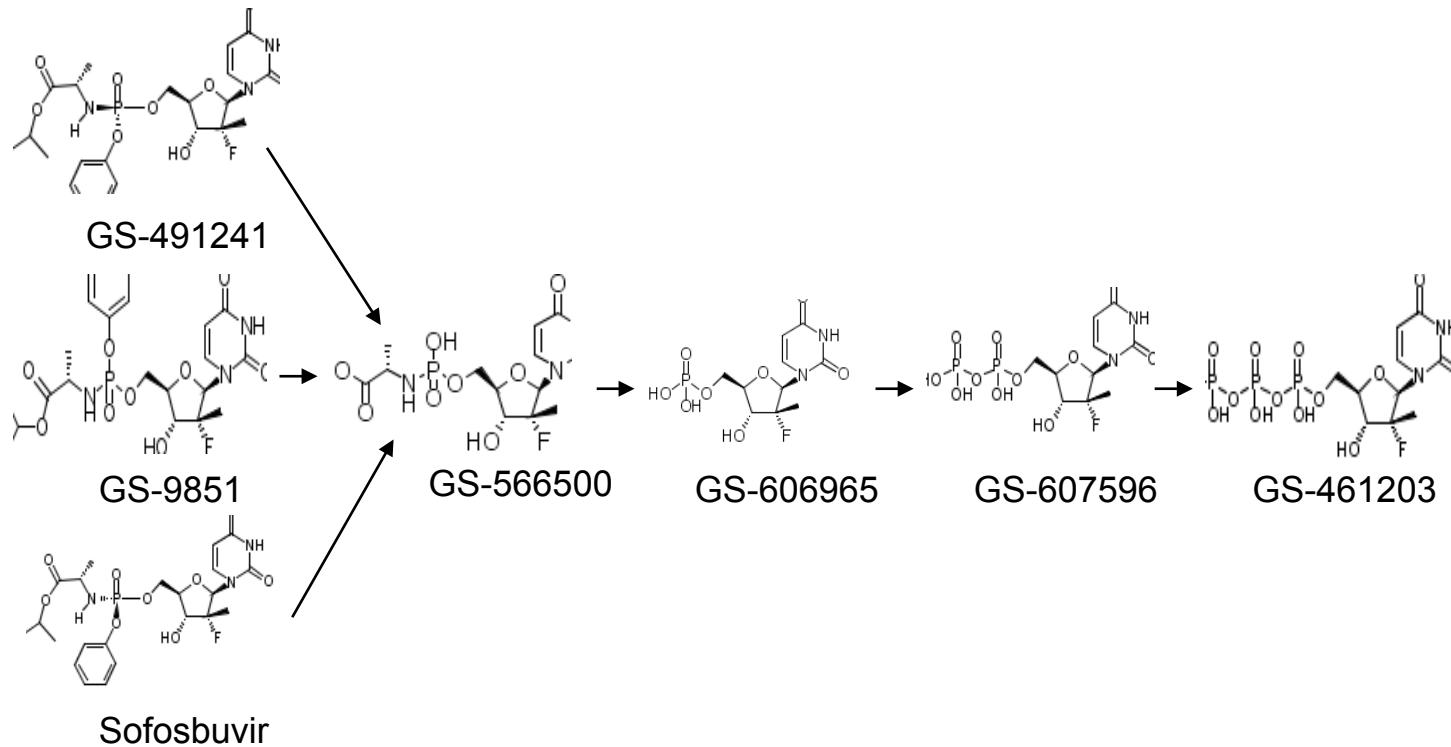
Test Article: GS-606965, GS-607596

Report Title: Phosphorylation of GS-606965 and GS-607596 by Human Recombinant Nucleotide Kinases

Phosphorylation of GS-606965 by UMP-CMP kinase (UMP-CMPK)				
	kcat (1/s)	Km (μmol/L)	kcat/Km (L/μmol/s)	Fold difference
UMP	81 ± 5	151 ± 31	0.54	1
GS-606965	7.9 ± 0.5	870 ± 100	0.0091	0.017
Phosphorylation of GS-607596 by nucleoside diphosphate kinase (NDPK)				
	kcat (1/s)	Km (μmol/L)	kcat/Km (L/μmol/s)	Fold difference
UDP	145 ± 7	156 ± 25	0.93	1
GS-607596	27 ± 2	585 ± 104	0.046	0.049

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

細胞内活性化経路



2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 J 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ラット、サル、イヌ、ヒト初代肝細胞での代謝

Report Number: PC-PSI-7851-08-0011

Location: [4.2.2.4.14](#)

Test Article: GS-9851

Report Title: PSI-7409 (PSI-6206 5'-triphosphate) Formation in Primary Rat, Dog, Monkey and Human Hepatocytes after Treatment with 100 μ M PSI-7851

Time (h)	Intracellular Levels of GS-461203 (mmol/L)			
	Human Hepatocytes	Monkey Hepatocytes	Dog Hepatocytes	Rat Hepatocytes
0	0	0	0	0
4	0.31	0.03	0.09	0.33
8	0.53	0.06	0.13	0.34
24	0.72	0.14	0.21	0.16
48	0.62	0.21	0.17	0.10
72	0.23	0.22	0.08	0.05

GS-9851 was incubated at 100 μ mol/L

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 K 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト初代肝細胞での代謝

Report Number: PC-PSI-7851-08-00014

Location: [4.2.2.4.15](#)

Test Article: [³H]GS-9851

Report Title: PSI-7851 Metabolism in Human Hepatocytes

Time (h)	Intracellular Concentrations (μmol/L)					
	GS-9851	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203
0.08	0.28	0.31	7.46	0.05	0.04	0.11
0.25	0.41	0.64	14.35	0.15	0.11	0.16
0.50	0.92	1.38	25.89	0.25	0.18	0.30
1	0.88	0.74	42.15	0.61	0.97	2.49
2	0.61	0.50	46.58	0.87	1.98	7.26
4	0.53	1.26	86.29	9.57	21.68	30.33
8	0.16	0.60	32.87	4.56	14.86	34.38
24	0.58	1.58	2.59	22.92	17.61	35.40
48	0.31	0.47	0.63	7.25	9.01	31.00
72	0.03	0.16	0.48	0.23	1.36	4.06

Primary human hepatocytes (1x10⁶cells/well) were incubated at 37°C for 72 hr with 5 μmol/L of [³H]-GS-9851

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 K 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト初代肝細胞での代謝 (続き)

Report Number: PC-PSI-7851-08-00014

Test Article: [³H]GS-9851

Report Title: PSI-7851 Metabolism in Human Hepatocytes

Concentration of GS-9851 ($\mu\text{mol/L}$)	Intracellular Concentrations ($\mu\text{mol/L}$)					
	GS-9851	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203
0.5	0.07	0.15	0.26	2.55	3.61	6.72
1	0.07	0.33	0.51	3.56	7.05	13.67
5	0.58	1.58	2.59	22.92	17.61	35.40
10	0.96	1.79	4.45	36.43	38.15	110.29
25	3.52	11.07	18.71	117.56	159.58	315.54
50	3.74	10.49	57.56	103.30	267.68	632.26
100	8.47	15.14	152.11	217.35	248.22	705.95

Primary human hepatocytes (1×10^6 cells/well) were incubated at 37°C for 24 hr with 0.5-100 $\mu\text{mol/L}$ of [³H]-GS-9851

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 L 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト初代肝細胞での GS-461203 の生成

Report Number: AD-334-2017 Location: [4.2.2.4.16](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: In Vitro Activation of GS-7977 in Primary Human Hepatocytes

Donor	Intracellular GS-461203 Kinetic Parameters					
	Tmax (h)	C _{max} (pmol/million)	C ₂₄ (pmol/million)	AUC ₀₋₂₄ (pmol/million.h)	MRT (h)	T _{1/2} (h)
Human1	12	23.9	12.5	419	12.1	> 12
Human2	12	12.9	8.71	228	13.0	> 12
Human3	12	61.8	36.5	1085	12.4	> 12
Human4	12	26.5	20.7	496	13.2	> 12
Human5	12	31.2	24.3	594	13.0	> 12
Human6	12	14.6	10.0	263	12.9	> 12
Human7	10	12.7	10.5	244	13.1	> 12
Human8	10	13.5	11.2	266	12.8	> 12
Human9	6	5.99	3.40	80.4	12.4	> 12
Human10	10	9.24	7.00	157	13.6	> 12
Human11	4	12.6	5.50	175	11.4	> 12
Human12	10	12.0	6.52	203	11.9	> 12
Human13	10	9.95	8.18	179	13.6	> 12
Human14	10	19.8	18.1	391	13.4	> 12
Mean ± SD	10.1 ± 2.4	19.0 ± 14.2	13.1 ± 9.6	342 ± 257	12.8 ± 0.7	> 12

Cells were incubated with 1, 5, or 10 μ mol/L sofosbuvir and all the values are based on dose normalization to 1 μ mol/L.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 M 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

クローン A 細胞での代謝

Report Number: PC-PSI-7851-08-0010 Location: [4.2.2.4.17](#) Test Article: [³H]GS-9851

Report Title: PSI-7851 metabolism in Clone A cells

Time (h)	Intracellular Concentrations (μmol/L)					
	GS-9851	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203
0.08	0.15	0	0.13	0	0	0
0.25	0.10	0	0.29	0	0	0
0.5	0.10	0	0.57	0	0	0
1	0.09	0	1.23	0	0	0
2	0.09	0.029	3.30	0.04	0.09	0.16
4	0.11	0.041	10.7	0.11	0.32	1.41
8	0.15	0.094	21.9	0.63	3.11	6.33
24	0	0.410	23.4	2.17	5.45	18.9
48	0	0.334	15.6	2.87	9.34	23.8
72	0	0.138	4.73	1.53	4.37	11.7

GS-9851 was incubated at 5 μmol/L

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 N 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト末梢血単核球細胞での代謝

Report Number: PC-PSI-7851-09-0003 Location: [4.2.2.4.18](#) Test Article: [³H]GS-9851

Report Title: PSI-7851 Metabolism in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells

Time (h)	Intracellular Concentrations (μmol/L)				
	Stimulated PBMC				
	GS-9851	GS-331007	GS-566500	GS-607596	GS-461203
0.08	2.291	0.000	0.272	0.000	0.000
0.25	2.033	0.000	0.358	0.000	0.000
0.5	2.678	0.000	0.685	0.000	0.000
1	2.103	0.059	1.086	0.000	0.000
2	2.861	0.074	1.770	0.000	0.047
4	2.396	0.124	2.721	0.044	0.166
8	3.779	0.105	4.099	0.128	0.540
24	1.316	0.194	5.418	0.446	2.926
48	2.402	0.257	5.690	0.664	4.074
72	2.850	0.270	7.140	1.310	4.490

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.11 N 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト末梢血単核球細胞での代謝 (続き)

Report Number: PC-PSI-7851-09-0003

Test Article: [³H]GS-9851

Report Title: PSI-7851 Metabolism in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells

Time (h)	Intracellular Concentrations (μmol/L)				
	Non-stimulated PBMC				
	GS-9851	GS-331007	GS-566500	GS-607596	GS-461203
0.08	2.390	0.053	0.393	0.000	0.000
0.25	2.247	0.031	0.692	0.000	0.000
0.5	2.563	0.061	1.008	0.000	0.000
1	3.052	0.092	1.873	0.000	0.000
2	2.584	0.108	2.495	0.030	0.053
4	2.260	0.139	3.264	0.078	0.202
8	2.833	0.155	4.070	0.178	0.664
24	2.177	0.261	4.706	0.222	2.831
48	1.681	0.368	5.078	0.340	3.484
72	2.470	0.545	6.018	0.385	3.711

Human PBMC (2×10^6 /mL) were incubated with 5 μmol/L of [³H]-GS-9851 at 37°C up to 72 hr with and without stimulation with PHA-P

PBMC: peripheral blood mononuclear cells; PHA-P: p aminohippuric acid

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 O 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ヒト末梢血単核球細胞及び初代肝細胞での代謝

Report Number: PC-PSI-7977-11-0004 Location: [4.2.2.4.19](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Comparison of PSI-7977 Metabolism in Human Hepatocytes and Peripheral Blood Mononuclear Cells

Time (h)	Intracellular Concentrations (pmol/million cells)									
	Primary Human Hepatocytes					Non-stimulated PBMC		Stimulated PBMS		
	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203	GS-566500	GS-461203	GS-566500	GS-461203	
0.08	1.54	34.61	2.06	0.00	0.00	1.51	0.00	1.80	0.00	
0.25	1.20	63.76	5.37	0.00	0.00	3.07	0.00	2.51	0.00	
0.5	2.03	101.95	6.81	1.03	2.37	4.19	0.00	2.61	0.00	
1	2.14	155.19	8.83	3.42	6.99	5.52	0.00	4.11	0.00	
2	1.30	161.20	12.06	8.15	22.56	8.76	0.00	7.09	0.00	
4	3.75	160.97	14.99	42.89	59.50	12.49	0.94	8.06	0.00	
8	3.49	101.01	18.57	61.11	133.49	14.15	2.70	10.18	1.78	
24	3.25	6.14	19.46	62.54	135.09	13.97	9.38	13.92	10.00	
48	4.52	3.69	24.82	84.47	145.63	16.88	12.23	13.31	11.98	

[¹⁴C]Sofosbuvir was incubated at 5 μ mol/L.

GS-331007, GS-606965, and GS-607596 were below 2 pmol/million cells over 48 h in both non-stimulated and stimulated PBMCs.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.11 P 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

ミクロソーム中安定性

Report Number: SA-PSI-7977-09-0004 Location: [4.2.2.4.20](#) Test Article: Sofosbuvir, GS-566500, GS-606965, GS-331007

Report Title: Investigation of the Human Cytochrome P450, FMO, and UGT Involvement in the Metabolism of PSI-7977, PSI-352707, PSI-7411, and PSI-6206 Using Human Liver Microsomes

Time (min)	% Remaining after Incubation with Human Liver Microsomes															
	SOF				GS-566500				GS-606965				GS-331007			
	HLM ^a	Heat ^b	ABT ^c	UDPGA ^d	HLM ^a	Heat ^b	ABT ^c	UDPGA ^d	HLM ^a	Heat ^b	ABT ^c	UDPGA ^d	HLM ^a	Heat ^b	ABT ^c	UDPGA ^d
0	100	100	100	100	100	-	100	-	100	-	88	-	100	100	92	100
5	72	82	92	80	96	100	100	100	118	100	100	100	90	98	88	107
10	60	75	87	74	92	109	103	104	106	106	138	99	91	95	98	106
20	53	65	80	60	93	121	98	108	107	100	131	92	92	93	98	94
30	40	61	70	49	88	128	97	99	101	102	140	82	85	92	100	92
60	27	42	46	24	83	125	92	90	104	93	131	68	87	88	96	102

ABT = CYP inhibition by 1-aminobenzotriazole (ABT); Heat = heat inactivation of FMO enzyme at 45°C; HLM = human liver microsome; UDPGA = incubations with UDPGA as co-factor
SOF = sofosbuvir

a: Each test article was incubated in 0.5 mg/mL of HLM.

b: Each test article was incubated in 0.5 mg/mL of HLM after pre-incubation without NADPH at 45°C for 3 minutes and chilled on ice for 1 minute.

c: Each test article was incubated in 0.5 mg/mL HLM with 100 µmol/L of ABT.

d: Each test article was incubated in the presence of UDPGA and 50 µg/mL of HLM.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.11 Q 薬物動態試験：代謝：*In vitro* (続き)

CYP 発現系での検討

Report Number: AD-334-2015

Location: [4.2.2.4.21](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-331007

Report Title: Cytochrome P450 Metabolic Reaction Phenotyping of GS-7977 and GS-331007

Compounds	Metabolism Rate (1/min)						
	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
SOF (% Positive Control)	< 0.12 (< 2.2%)	< 0.12 (< 10%)	< 0.23 (< 1.0%)	< 0.47 (< 1.8%)	< 0.12 (< 0.5%)	< 0.23 (< 0.9%)	< 0.47 (< 0.8%)
GS-331007 (% Positive Control)	< 0.12 (< 2.2%)	< 0.12 (< 10%)	< 0.23 (< 1.0%)	< 0.47 (< 1.8%)	< 0.12 (< 0.5%)	< 0.23 (< 0.9%)	< 0.47 (< 0.8%)
Tacrine	5.3	-	-	-	-	-	-
Efavirenz	-	1.2 ^a	-	-	-	-	-
Amodiaquine	-	-	24.0	-	-	-	-
Diclofenac	-	-	-	26.5	-	-	-
Omeprazole	-	-	-	-	22.2	-	-
Dextromethorphan	-	-	-	-	-	27.5	-
Simvastatin	-	-	-	-	-	-	59.5

SOF = sofosbuvir

a Efavirenz is a selective substrate for CYP2B6 but is metabolized slowly

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.12 薬物動態試験：推定代謝経路

代謝 *in vivo* の項に記載。

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.13 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害／誘導

薬物相互作用の項に記載。

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.14 A 薬物動態試験：排泄

マウスでの排泄

Report Number: SA-PSI-7977-11-0007 Location: [4.2.2.5.1](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Excretion Mass Balance and Pharmacokinetics of Radioactivity in Male CD-1 Mice Following a Single Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977

Species	CD-1 Mouse		
Sex/ No. of Animals	Male/9		
Feeding Condition	Not Fasted		
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80		
Method of Administration	Oral Gavage		
Sampling Time	Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24 h and 24 h intervals to 168 h Feces: Pre-dose, 0-24 h and 24 h intervals to 168 h Cage rinse: 24 h intervals to 168 h		
Dose	20 mg/kg (200 μ Ci/kg)		
Specific Activity	56.7 mCi/mmol		
Analyte/ Assay	Liquid Scintillation counter		
Mean % Recovery of Total Radioactivity			
Time Period	Feces	Urine	Cage ^a
0-8 h	ND	42.095	ND
0-24 h	13.001	62.531	1.800
0-48 h	13.617	64.107	2.415
0-72 h	13.958	64.646	2.748
0-96 h	14.053	64.992	2.922
0-120 h	14.127	65.208	3.047
0-144 h	14.177	65.355	3.195
0-168 h	14.213	65.626	4.958

a: Cage wash and wipe at the end of the study are included in the last time period. ND = not determined

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.14 B 薬物動態試験：排泄（続き）

ラットでの排泄

Report Number: SA-PSI-7977-09-0003 Location: [4.2.2.5.2](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Mass Balance and Pharmacokinetics of Radioactivity in Male Rats Following a Single Oral Dose of [¹⁴C]PSI-7977

Species	Sprague Dawley Rats (Intact)	Sprague Dawley Rats (Bile Duct Cannulated)
Sex/No. of Animals	Male/3	Male/3
Feeding Condition	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80	95% PEG 400, 5% Tween 80
Method of Administration	Oral Gavage	Oral Gavage
Sampling Time	Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24 and 24 h intervals to 168 h Feces: Pre-dose, 0-24 and 24 h intervals to 168 h Cage rinse: 24 h intervals to 168 h	Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24 and 24 h intervals to 96 h Feces: Pre-dose, 0-24 and 24 h intervals to 96 h Bile: Pre-dose, 0-8, 8-24 and 24 h intervals to 96 h Cage rinse: 24 h intervals to 96 h
Dose	20 mg/kg (200 µCi/kg)	
Specific Activity	56.7 mCi/mmol	
Analyte/ Assay	Liquid scintillation counter	

Mean % Recovery of Total Radioactivity

Time Period	Urine	Feces	Cage Rinse ^a	Urine	Feces	Bile	Cage Rinse ^a
0-8 h	40.552	ND	ND	39.978	ND	5.307	ND
0-24 h	65.940	13.621	2.984	56.054	10.621	5.509	2.826
0-48 h	69.677	17.881	3.567	61.468	17.176	5.564	3.551
0-72 h	70.777	18.297	3.898	62.692	17.843	5.573	3.795
0-96 h	71.414	18.374	4.062	63.331	18.077	5.578	4.949
0-120 h	71.817	18.399	4.131	ND	ND	ND	ND
0-144 h	72.024	18.412	4.188	ND	ND	ND	ND
0-168 h	72.196	18.425	4.607	ND	ND	ND	ND

ND = not determined; PEG400 = 80% (v/v) aqueous polyethylene glycol 400, a: Cage wash and wipe at the end of the study are included in the last time period.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.14 C 薬物動態試験：排泄（続き）

イヌでの排泄

Report Number: SA-PSI-7977-10-0002 Location: [4.2.2.5.3](#) Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: Excretion of Radioactivity in Male Beagle Dogs Administered a Single Oral Dose Of ¹⁴C-PSI-7977

Species	Beagle Dog
Sex/ No. of Animals	Male/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	95% PEG 400, 5% Tween 80
Method of Administration	Oral Gavage
Sampling Time	Urine: Pre-dose, 0-6, 6-12, 12-24, 24-48 and 24 h intervals to 168 h Feces: Pre-dose, 0-24 h and 24 h intervals to 168 h, Cage rinse: 24 h intervals to 168 h
Dose	22.01 mg/kg (75.2 µCi/kg)
Specific Activity	56.7 mi/mmol
Analyte/ Assay	Liquid Scintillation counter

Mean % Recovery of Total Radioactivity

Time Period	Urine	Feces	Cage Rinse	Total
0-6 h	44.74	ND	ND	44.74
0-12 h	62.14	ND	ND	62.14
0-24 h	72.22	0.78	6.02	79.02
0-48 h	76.82	1.46	7.82	86.10
0-72 h	78.26	1.62	8.82	88.70
0-96 h	79.30	1.69	9.47	90.46
0-120 h	79.75	1.71	9.91	91.37
0-144 h	80.09	1.75	10.70	92.54
0-168 h	80.73	1.80	11.83	94.36

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.15 薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14 排泄の項に記載。

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 A 薬物動態試験：薬物相互作用

ソホスブビルの CYP 阻害

Report Number: PC-PSI-7977-09-0011 Location: [4.2.2.6.1](#) Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Absence of effect of PSI-7977 on human Cytochrome P450 Isozymes

Method:	CYP reactions were run in the presence of 10 $\mu\text{mol/L}$ or 50 $\mu\text{mol/L}$ of SOF using human recombinant CYP enzymes.	
CYP Enzyme	10 $\mu\text{mol/L}$ SOF (% Inhibition)	50 $\mu\text{mol/L}$ SOF (% Inhibition)
CYP1A2	6.1	3.8
CYP3A4	9.8	21.6
CYP2C8	4.1	-6.5
CYP2C9	-4.7	8.2
CYP2C19	8.4	14
CYP2D6	-4.2	-0.3

CYP = cytochrome P450; SOF = sofosbuvir

Values represent the mean of triplicate experiments

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 B 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

CYP への阻害作用

Report Number: PC-PSI-7851-09-0009 Location: [4.2.2.6.2](#) Test Article: GS-9851、GS-331007、GS-461203、GS-607596、GS-606965、GS-566500

Report Title: Absence of Effect of PSI-7851 and Its Metabolites on Human Cytochrome P450 Isozymes

Method: 0.05-100 μmol/L of each compound was incubated with CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4 enzymes.

	IC ₅₀ (μmol/L)					
	GS-9851	GS-331007	GS-461203	GS-607596	GS-606965	GS-566500
CYP1A2	>100	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2C8	>100	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2C9	>100	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2C19	>100	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2D6	>100	>100	>100	>100	>100	>100
CYP3A4	>100	>100	>100	>100	>100	>100

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 C 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

ヒト肝ミクロソームを用いたCYP分子種阻害

Report Number: AD-334-2020

Location: [4.2.2.6.3](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-331007

Report Title: In Vitro Assessment of Human Hepatic Microsomal Cytochrome P450 Inhibition Potential of GS-7977 and GS-331007

Method: SOF (up to 100 μ mol/L) or GS-331007 (up to 300 μ mol/L) was incubated with human liver microsomes and NADPH in the presence of individual probe substrates.

CYP Enzyme	Probe Activity	Control Inhibitor	Calculated IC ₅₀ (μ mol/L)	
			Sofosbuvir	GS-331007
CYP1A2	Phenacetin O-deethylase	0.07 (α -naphthoflavone)	> 100	> 300
CYP2B6	Bupropion 4-hydroxylase	0.56 (ticlopidine)	> 100	> 300
CYP2C8	Paclitaxel 6 α -hydroxylase	1.2 (montelukast)	> 100	> 300
CYP2C9	Tolbutamide 4-hydroxylase	0.44 (sulfaphenazole)	> 100	> 300
CYP2C19	S-Mephenytoin 4'-hydroxylase	9.7 (tranylcypromine)	> 100	> 300
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylase	0.04 (quinidine)	> 100	> 300
CYP3A	Midazolam 1'-hydroxylase	0.07 (ketoconazole)	53.1	> 300
	Testosterone 6 β -hydroxylase	0.30 (ketoconazole)	> 100	> 300

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 D 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

初代肝細胞での NS5A 阻害薬による阻害

Report Number: PC-PSI-7977-11-0002

Location: [4.2.2.6.4](#)

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: The NS5A inhibitor, BMS790052, has no effect on the uptake and metabolism of PSI-7977 in primary human hepatocytes

Method:					Primary human hepatocytes from 2 different donors were incubated with 5 μ mol/L [¹⁴ C]Sofosbuvir and increasing concentrations of BMS790052 at 37°C for 4 hours. The intracellular metabolites were extracted and analyzed by HPLC equipped with radiometric flow scintillation analyzer.						
BMS790052 (μ mol/L)	Donor 1, Intracellular Concentrations (μ mol/L)					BMS790052 (μ mol/L)	Donor 2, Intracellular Concentrations (μ mol/L)				
	GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203		GS-331007	GS-566500	GS-606965	GS-607596	GS-461203
0	1.92	48.14	13.26	10.77	23.27	0	2.11	129.35	17.56	21.43	71.39
0.01	1.94	54.30	11.95	11.52	25.17	0.1	2.32	145.78	15.36	25.99	72.35
0.1	1.77	53.22	11.73	12.26	21.75	0.5	1.99	148.84	17.44	22.35	73.60
1	2.86	61.30	18.46	16.26	19.08	2.5	1.73	129.37	18.00	19.63	67.90
10	1.63	41.14	9.53	8.87	19.82	10	2.17	136.53	17.94	19.05	60.37
						50	2.91	139.25	21.07	23.18	69.96

NS5A = non-structural protein 5A

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 E 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

肝細胞での抗 HCV 阻害薬による阻害

Report Number: AD-334-2010

Location: [4.2.2.6.5](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Effect of either cytochrome P450 or HCV inhibitors on Triphosphate Formation in Primary Human Hepatocytes Following Incubation with GS-7977

Method:	SOF was at 10 μ mol/L either alone or in combination (following a 30-minute preincubation) with various cytochrome P450 inhibitors or HCV inhibitors for 2 hours. Inhibitors tested were incubated at either 5 μ mol/L (ritonavir) or 10 μ mol/L (GS-5885, GS-9451, GS-9190, GS-5816, GS-9669, and ketoconazole). The intracellular metabolites were extracted and analyzed by LC/MS/MS.
Inhibitor	Intracellular concentration of GS-461203 (pmol/million cells) ^a
No Inhibitor	69.8
GS-5885 (NS5A)	49.7
GS-9451 (NS3)	57.3
GS-9190 (NS5B NNI)	53.4
GS-5816 (NS5A)	49.5
GS-9669 (NS5B NNI)	53.8
Ritonavir	58.6
Ketoconazole	60.2

CYP = cytochrome P450; HCV = hepatitis C virus; NNI = non-nucleoside inhibitor; NS3 = non-structural protein 3; NS5A = non-structural protein 5A; NS5B = non-structural protein 5B

a: Values represent mean of duplicate experiments

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 E 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

ソホスブビルの肝酵素誘導作用

Report Number: PC-PSI-7977-10-0005

Location: [4.2.2.6.6](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: In vitro Evaluation of PSI-7977 as an Inducer of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes

Method:	Three preparations of human hepatocytes from 3 separate livers were treated once daily for 3 consecutive days with dimethyl sulfoxide (DMSO, 0.1% v/v, vehicle control), 1 of 3 concentrations of SOF (1, 10 or 100 μ mol/L) or 1 of 3 known human CYP inducers, namely, omeprazole (100 μ mol/L), Phenobarbital (750 μ mol/L) and rifampin (10 μ mol/L). After treatment, the cells were harvested to isolate microsomes for the analysis of phenacetin <i>O</i> -dealkylation (marker for CYP1A2), bupropion hydroxylation (marker for CYP2B6) and testosterone 6 β -hydroxylation (marker for CYP3A4/5) by LC/MS/MS. Additional hepatocytes from the same treatment groups were harvested to isolate RNA, which was analyzed by qRT-PCR to assess the effect of SOF on CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA levels.		
	CYP activity fold increase ^a		
Treatment	Phenacetin <i>O</i> -dealkylation (CYP1A2)	Bupropion hydroxylation (CYP2B6)	Testosterone 6 β -hydroxylation (CYP3A4/5)
DMSO (0.1% v/v)	1.00 \pm 0.15	1.00 \pm 0.62	1.00 \pm 0.47
SOF (1 μ mol/L)	1.05 (n = 2)	1.05 (n = 2)	1.02 (n = 2)
SOF (10 μ mol/L)	1.02 \pm 0.02	1.24 \pm 0.16	1.14 \pm 0.30
SOF (100 μ mol/L)	1.05 \pm 0.07	2.70 \pm 0.20	1.21 \pm 0.53
Omeprazole (100 μ mol/L)	30.4 \pm 5.5	8.30 \pm 2.82	2.71 \pm 0.82
Phenobarbital (750 μ mol/L)	2.32 \pm 0.25	18.1 \pm 9.7	7.64 \pm 2.84
Rifampin (10 μ mol/L)	2.02 \pm 0.47	7.07 \pm 3.71	6.87 \pm 2.65

CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; SOF = sofosbuvir

a: Values are the mean \pm standard deviation of 3 determinations unless indicated otherwise (eg, n = 2)

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 E 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

ソホスブビルの肝酵素誘導作用（続き）

Report Number: PC-PSI-7977-10-0005

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: In vitro Evaluation of PSI-7977 as an Inducer of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes

Treatment	mRNA fold increase ^a		
	CYP1A2	CYP2B6	CYP3A4
DMSO (0.1% v/v)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
SOF (1 µmol/L)	1.29 (n = 2)	1.47 (n = 2)	1.20 (n = 2)
SOF (10 µmol/L)	1.41 ± 0.31	1.67 ± 0.81	1.35 ± 0.31
SOF (100 µmol/L)	1.44 ± 0.91	2.04 ± 0.76	2.73 ± 1.01
Omeprazole (100 µmol/L)	203 ± 115	NA	NA
Phenobarbital (750 µmol/L)	NA	14.7 ± 5.2	NA
Rifampin (10 µmol/L)	NA	NA	14.0 ± 7.1

CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; SOF = sofosbuvir

a: Values are the mean ± standard deviation of 3 determinations unless indicated otherwise (eg, n = 2)

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 F 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

UGT1A1 発現系による阻害作用

Report Number: AD-334-2013

Location: [4.2.2.6.7](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-606965, GS-331007

Report Title: In Vitro Assessment of Human UGT1A1 Inhibition Potential of GS-7977, GS-606965 and GS-331007

Method:	Test compound (0.4 μ mol/L – 100 μ mol/L) was incubated with insect cell microsomal fraction containing baculovirus-expressed human UGT1A1 (final protein concentration 0.25 mg/mL), alamethicin (25 μ g/mL) and UDP-glucuronic acid (5 mmol/L), and the substrate, estradiol (10 μ mol/L). The UGT1A1-selective metabolite, estradiol 3-glucuronide, was monitored by LC/MS/MS and a decrease in the formation of the metabolite compared to the vehicle control was used to calculate an IC ₅₀ value.
Compound	IC ₅₀ (μ mol/L)
SOF	> 50
GS-606965	> 50
GS-331007	> 50
Atazanavir (Clinically relevant positive control)	0.22
Silybin (Assay positive control)	1.95

UGT = uridine diphosphate glucuronosyltransferase

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 G 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

UGT1A1 阻害

Report Number: AD-334-2022

Location: [4.2.2.6.8](#)

Test Article: Sofosbuvir, GS-606965, and GS-331007

Report Title: In Vitro Assessment of Human Hepatic Microsomal UGT1A1 Inhibition Potential of GS-7977, GS-331007 and GS-606965

Method:	Microsomal UGT1A1 inhibition assay was performed in a reaction mixture containing 0.4 mg/mL hepatic microsomal protein, 20 µg/mL alamethicin (50 µg alamethicin/mg microsomal protein), 5 mmol/L UDP-glucuronic acid, 10 mmol/L magnesium chloride, 5 mmol/L D-saccharic acid 1,4-lactone, 17 µmol/L β-estradiol and varying concentrations of test compounds up to 300 µmol/L in 0.1 mol/L potassium phosphate buffer (pH 7.4). The UGT1A1 selective metabolite, estradiol-3-glucuronide, was monitored by LC/MS/MS to calculate an IC ₅₀ value.	
Compound	Role	IC ₅₀ (µmol/L)
SOF	Nucleotide prodrug	198
GS-606965	Nucleoside monophosphate metabolite	> 300
GS-331007	Nucleoside metabolite	> 300
Atazanavir (Clinically relevant positive control)	Clinically relevant positive control	0.52

UGT = uridine diphosphate glucuronosyltransferase; SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 H 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Caco-2 細胞での P-gp 阻害作用

Report Number: [REDACTED] 8215026

Location: 4.2.2.6.9

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir and [¹⁴C]GS-331007

Report Title: Evaluation of PSI-7977 and PSI-6206 as P-gp Substrates and Inhibitors using Caco-2 Cell Monolayers

Method:	To determine if SOF and GS-331007 are substrates for P-gp the apparent permeability of [¹⁴ C]SOF or [¹⁴ C]GS-331007 was determined in both the forward and reverse directions in the presence or absence of the P-gp inhibitors CsA (10 μ mol/L) or verapamil (100 μ mol/L). Permeability of [¹⁴ C]SOF or [¹⁴ C]GS-331007 incubated at concentrations of 1 μ mol/L, 10 μ mol/L, and 100 μ mol/L was determined after 1 h, 2 h, 3 h, and 4 h. Permeability values for the 10 μ mol/L incubations incubated for 1 h are summarized in the table below.			
Test Article	P-gp Inhibitor	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Efflux Ratio
		Forward (A→B)	Reverse (B→A)	
[¹⁴ C]SOF	None	0.594	7.35	12.4
	CsA	0.722	3.37	4.66
	verapamil	0.726	2.62	3.61
[¹⁴ C]GS-331007	None	0.382*	0.406	1.06
	CsA	0.819**	0.494*	0.603
	verapamil	0.737	0.875	1.19

Experiments were done in triplicate *: average of two, **: One replicate

A = apical; B = basolateral; CsA = cyclosporine A; NA = not applicable; Papp = apparent permeability; Pgp = P-glycoprotein; SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 H 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Caco2 細胞での P-gp 阻害作用（続き）

Report Number: [REDACTED] 8215026

Test Article: Sofosbuvir and GS-331007

Report Title: Evaluation of PSI-7977 and PSI-6206 as P-gp Substrates and Inhibitors using Caco-2 Cell Monolayers

Method:	The effects of SOF and GS-331007 (0.2 $\mu\text{mol/L}$ to 100 $\mu\text{mol/L}$), CsA (10 $\mu\text{mol/L}$), and verapamil (100 $\mu\text{mol/L}$) on the P-gp mediated transport of [^3H]digoxin (1 $\mu\text{mol/L}$) were determined in both the Forward and Reverse directions.		
	Inhibitor (Concentration)	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Efflux Ratio
	Forward (A→B)	Reverse (B→A)	
None	1.44**	10.1**	7.04
CsA (10 $\mu\text{mol/L}$)	2.17	5.25*	2.41
Verapamil (100 $\mu\text{mol/L}$)	3.16	4.14	1.31
SOF (0.2 $\mu\text{mol/L}$)	1.23	12.2	9.90
SOF (1 $\mu\text{mol/L}$)	1.91	11.0	5.77
SOF (5 $\mu\text{mol/L}$)	1.42	10.6	7.47
SOF (10 $\mu\text{mol/L}$)	1.40	12.0	8.52
SOF (100 $\mu\text{mol/L}$)	1.28	10.7	8.39
GS-331007 (0.2 $\mu\text{mol/L}$)	1.11	8.35	7.49
GS-331007 (1 $\mu\text{mol/L}$)	1.24	10.2*	8.20
GS-331007 (5 $\mu\text{mol/L}$)	0.934	8.11	8.68
GS-331007 (10 $\mu\text{mol/L}$)	0.935	8.51	9.11
GS-331007 (100 $\mu\text{mol/L}$)	0.972	7.90	8.13

Experiments done in triplicate. *: average of two, **: Mean of six

A = apical; B = basolateral; CsA = cyclosporine A; NA = not applicable; Papp = apparent permeability; P-gp = P-glycoprotein; SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 I 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

抗 HCV 薬によるソホスブビル膜透過への影響

Report Number: AD-334-2002

Location: [4.2.2.6.10](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Effect of HCV Inhibitors from Different Classes GS-5885, GS-9451, GS-9190, GS- 5816 and GS-9669 on the Bidirectional Permeability of GS-7977 Through Monolayers of Caco-2 Cells

Method:	The bi-directional permeability of 10 $\mu\text{mol/L}$ SOF through monolayers of Caco-2 cells in 12 well trans-well plates was determined in the presence or absence of CsA and HCV inhibitors from different classes.		
Inhibitor (Concentration)		Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)	
	Forward (A→B)	Reverse (B→A)	Efflux Ratio
None	0.25	10.9	43.6
CsA (10 $\mu\text{mol/L}$)	0.46	0.64	1.4
GS-5816 (1 $\mu\text{mol/L}$)	0.66	7.39	11.2
GS-5885 (1 $\mu\text{mol/L}$)	0.35	8.1	22.9
GS-9190 (10 $\mu\text{mol/L}$)	0.69	11.1	16.1
GS-9451 (30 $\mu\text{mol/L}$)	1.09	1.17	1.1
GS-9669 (100 $\mu\text{mol/L}$)	0.30	6.93	23.4

Experiments were done in triplicate

A = apical; B = basolateral; Papp = apparent permeability; SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 J 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

BCRP を介した相互作用試験

Report Number: PC-PSI-7977-11-0006

Location: [4.2.2.6.11](#)

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir, [¹⁴C]GS-331007

Report Title: *In vitro* Interaction Studies of PSI-7977 and PSI-6206 with BCRP (ABCG2) in the Vesicular Transport Assay and in Bidirectional Transport (Papp) Studies on Transfected MDCKII Monolayers

Method:	Bidirectional transport of [¹⁴ C]Sofosbuvir and [¹⁴ C]GS-331007 was determined through parental and BCRP transfected MDCKII cell monolayers. Cells were preincubated in assay buffer for 10 min to allow cells adjusting to the medium, then assay buffers with 0.1 μ Ci/well. Sofosbuvir and GS-331007 were tested at concentrations of 3 μ mol/L, 10 μ mol/L, and 100 μ mol/L. Results for the experiment conducted at 100 μ mol/L are summarized below.			
Test Article	Cell Type	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)		Efflux Ratio
		Forward (A \rightarrow B)	Reverse (B \rightarrow A)	
Sofosbuvir	Parental	2.90	2.77	0.96
	BCRP	1.00	3.32	3.33
GS-331007	Parental	2.28	0.70	0.30
	BCRP	3.97	2.10	0.53

SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 J 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

BCRP を介した相互作用試験（続き）

Report Number: PC-PSI-7977-11-0006

Test Article: Sofosbuvir and GS-331007

Report Title: *In vitro* Interaction Studies of PSI-7977 and PSI-6206 with BCRP (ABCG2) in the Vesicular Transport Assay and in Bidirectional Transport (Papp) Studies on Transfected MDCKII Monolayers

Method:	Bidirectional transports of 100 μ mol/L [14 C]SOF was determined through BCRP transfected MDCKII cell monolayers in the presence or absence of the BCRP inhibitor Ko134.			
Test Article	Inhibitor	Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)	Efflux Ratio	
		Forward (A→B)	Reverse (B→A)	
Sofosbuvir	None	2.41	5.04	2.17
	Ko134	2.71	1.94	0.72

Experiments done in triplicate; A = apical; B = basolateral; BCRP = breast cancer resistant protein; MDCK = Madin-Darby Canine Kidney; SOF = sofosbuvir

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 J 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

BCRP を介した相互作用試験（続き）

Report Number: PC-PSI-7977-11-0006

Test Article: Sofosbuvir and GS-331007

Report Title: In vitro Interaction Studies of PSI-7977 and PSI-6206 with BCRP (ABCG2) in the Vesicular Transport Assay and in Bidirectional Transport (Papp) Studies on Transfected MDCKII Monolayers

Method:	The in vitro inhibition of E3S transport into BCRP expressing vesicles by SOF and GS-331007 at 7 concentrations (0.41, 1.2, 3.7, 11, 33, 100, and 300 μ mol/L) was measured	
Test Article	IC ₅₀ (μ mol/L)	Maximal inhibition (%) at the highest tested concentration (300 μ mol/L)
Sofosbuvir	>300	~44
GS-331007	>300	~9

BCRP = breast cancer resistant protein; E3S = estrone-3-sulfate; SOF = sofosbuvir
Assays completed in duplicate.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 K 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

MRP を介した相互作用試験

Report Number: AD-334-2016

Location: [4.2.2.6.12](#)

Test Article: Sofosbuvir and GS-331007

Report Title: In vitro Inhibition Study of Sofosbuvir and GS-331007 with the Human MRP2 Transporter

Method:	The <i>in vitro</i> inhibition of estradiol-17-beta-glucuronide transport into MRP2 expressing vesicles by Sofosbuvir and GS-331007 at 7 concentrations (0.14, 0.41, 1.2, 3.7, 11.1, 33.3, and 100 μ mol/L) was measured.		
Transporter	Test Article	IC ₅₀ (μ mol/L)	Observed effect (at 100 μ mol/L)
MRP2	Sofosbuvir	>100	28% stimulation
	GS-331007	>100	No inhibition

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.16 L 薬物動態試験：薬物相互作用

OATP1B1 及び OATP1B3 を介した相互作用試験

Report Number: PC-PSI-7977-11-0007

Location: [4.2.2.6.13](#)

Test Article: [¹⁴C]Sofosbuvir

Report Title: In vitro Interaction Studies of PSI-7977 and PSI-6206 with the human OATP1B1 and OATP1B3 Uptake Transporters

Method:	To determine if Sofosbuvir was a substrate of OATP1B1 or OATP1B3, PSI-7977 (20 and 200 µmol/L) was incubated with OATP1B1 or OATP1B3 expressing CHO cells and control cells for 2 and 20 min.		
Transporter	Sofosbuvir Concentration (µmol/L)	Incubation Time (min)	Transporter specific accumulation (fold)
OATP1B1	20	2	0.59
		20	1.21
	200	2	0.91
		20	1.17
OATP1B3	20	2	1.25
		20	1.6
	200	2	1.22
		20	1.78

CHO = Chinese Hamster Ovary; OATP = organic anion-transporting polypeptide

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 L 薬物動態試験：薬物相互作用

OATP1B1 及び OATP1B3 を介した相互作用試験（続き）

Report Number: PC-PSI-7977-11-0007

Test Article: Sofosbuvir, GS-331007

Report Title: In vitro Interaction Studies of PSI-7977 and PSI-6206 with the human OATP1B1 and OATP1B3 Uptake Transporters

Method:	The <i>in vitro</i> inhibitions of model substrates into CHO cells transfected with OATP1B1 ([³ H]E3S) or OATP1B3 (Fluo-3) was determined for Sofosbuvir and GS-331007 tested at concentrations from 0.41 μ mol/L to 300 μ mol/L.		
Transporter	Test Article	IC ₅₀ (μ mol/L)	Maximal inhibition (%) at the highest tested concentration (300 μ mol/L)
OATP1B1	Sofosbuvir	>300	~23
	GS-331007	>300	~20
OATP1B3	Sofosbuvir	~203.5	~60
	GS-331007	>300	~46

CHO = Chinese Hamster Ovary; OATP = organic anion-transporting polypeptide; E3S = estrone-3-sulfate
Assays completed in duplicate.

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 M 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OCT1 及び BSEP を介した相互作用試験

Report Number: AD-334-2004

Location: [4.2.2.6.14](#)

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: In Vitro Interaction Studies of GS-7977 with Human OCT1 and BSEP Transporters

Type of Study:	Accumulation in parental or OCT1 transfected CHO cells			
Method:	In the substrate assay, the transporter specific accumulation of Sofosbuvir into OCT1 transporter expressing cells was investigated. Transport was measured at 2 concentrations (10 µmol/L and 100 µmol/L) and at 2 time points (2 and 20 minutes). The amount of substrate inside the cells was determined by LC/MS method.			
Sofosbuvir Concentration (µmol/L)	Incubation Time (min)	Accumulation in CHO OCT1 cells (pmol/mg)	Accumulation in CHO parental cells (pmol/mg)	Transporter specific accumulation (fold)
10	2	27.07	14.89	1.82
	20	108.87	46.14	2.36 ^a
100	2	196.42	199.57	0.98
	20	720.99	636.35	1.13

CHO = Chinese Hamster Ovary; OCT1 = organic cation transporter 1

a: Due to high variability between replicates this value was not interpreted to indicate that Sofosbuvir is an OCT1 substrate (accumulation exceeding 2-fold).

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 M 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OCT1 及び BSEP を介した相互作用試験（続き）

Report Number: AD-334-2004

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: In Vitro Interaction Studies of GS-7977 with Human OCT1 and BSEP Transporters

Method:	<p>Sofosbuvir was incubated with membrane vesicle preparations (total protein: 50 µg/well) isolated from BSEP overexpressing cells and the probe substrate taurocholate (2 µmol/L) in the absence or presence of ATP. Reaction mixtures were preincubated for 15 minutes at 37°C. Reactions were started by the addition of 25 µL of 12 mmol/L MgATP (or assay buffer for background controls), preincubated separately. Reactions were stopped after 5 min by the addition of 200 µL of ice-cold washing buffer and immediate filtration via glass fiber filters mounted to a 96-well plate (filter plate). The filters were washed, dried and the amount of substrate inside the filtered vesicles determined by liquid scintillation. Cyclosporine A (20 µmol/L) was used as a positive control and tested in parallel. Control membranes lacking the BSEP expression were used as negative control.</p> <p>Plated cells were washed with Krebs-Henseleit buffer and were then exposed for 20 minutes to the same buffer containing [¹⁴C]-metformin substrate (4 µmol/L) and SOF. After this, the medium was aspirated and cells were washed twice prior to solubilization of the cells with 0.1 mol/L NaOH and determination of the amount of cell-associated radioactivity by liquid scintillation counting. Results were compared to parent CHO cells (without human OCT1) treated in the same manner. Verapamil (100 µmol/L) was used as a positive control and tested in parallel.</p>	
Transporter	IC ₅₀ (µmol/L)	Maximal inhibition (%) at the highest tested concentration (100 µmol/L)
BSEP	>100	18
OCT1	~100	48

ATP = adenosine 5'-triphosphate; BSEP = bile salt export pump; CHO = Chinese Hamster Ovary; OCT1 = organic cation transporter 1

Assays completed in duplicate (BSEP) or triplicate (OCT1).

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 N 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OAT1 を介した相互作用試験

Report Number: AD-334-2021

Location: [4.2.2.6.15](#)

Test Article: GS-331007

Report Title: In Vitro Interaction Studies of the Nucleoside Metabolite GS-331007 of Sofosbuvir with Human OAT1 Transporter

Method:	The <i>in vitro</i> potential of GS-331007 to inhibit human OAT1 was assessed in OAT1-transfected-CHO cells using a ³ H-labeled model substrate para-aminohippuric acid (PAH).		
Test Article	IC ₅₀ (μmol/L)	% Inhibition at 300 μmol/L	
GS-331007	>300	8.3	
Assay Conditions	GS-331007 uptake as % control in non-transfected CHO cells		
Cells	Inhibitor	2 μmol/L GS-331007	20 μmol/L GS-331007
Non-transfected CHO	None	100	100
Non-transfected CHO	150 μmol/L Probenecid	94	70
Non-transfected CHO	50 μmol/L Diclofenac	99	87
OAT1-CHO	None	101	79
OAT1-CHO	150 μmol/L Probenecid	107	92
OAT1-CHO	50 μmol/L Diclofenac	95	84

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.16 O 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1、BSEP を介した相互作用試験

Report Number: AD-334-2005

Location: [4.2.2.6.16](#)

Test Article: GS-331007

Report Title: In Vitro Interaction Studies of GS-331007 with Human Hepatic Transporters OCT1 and BSEP and Renal Transporters OAT1, OAT3 OCT2 and MATE1

Method: The transporter specific uptake of GS-331007 was determined using cells overexpressing the OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, and MATE1 transporters as well as the control (parental) cells. GS-331007 was incubated at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ at final concentrations of 1 and 10 $\mu\text{mol/L}$. Incubations (2 min and 20 min) were carried out as described in the uptake transporter inhibition assays, GS-331007 intracellular concentrations were determined by LC/MS/MS. In case of OAT1, an additional experiment was performed in the presence of a known inhibitor of the transporter (200 $\mu\text{mol/L}$ benz bromarone).

Transporter	GS-331007 Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Incubation Time (min)	Fold Accumulation
OAT1	1	2	13.02 ^a
		20	NA
	10	2	1.21
		20	2.74 ^b
OAT3	1	2	NA
		20	NA
	10	2	1.57
		20	1.09

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ[®]錠 400 mg

2.6.5.16 O 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1、BSEP を介した相互作用試験（続き）

Report Number: AD-334-2005

Test Article: GS-331007

Report Title: In Vitro Interaction Studies of GS-331007 with Human Hepatic Transporters OCT1 and BSEP and Renal Transporters OAT1, OAT3 OCT2 and MATE1

Transporter	GS-331007 Concentration (μmol/L)	Incubation Time (min)	Fold Accumulation
OCT1	1	2	NA
		20	NA
	10	2	0.68
		20	1.29
OCT2	1	2	NA
		20	0.58
	10	2	0.92
		20	1.14
MATE1	1	2	NA
		20	NA
	10	2	0.93
		20	0.89

OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; NA = not applicable, no uptake detected under test condition

a: Only 1 of the triplicates could be measured, therefore this result is not reliable

b: In case of OAT1, the fold accumulation was 2.74 at 10 μmol/L after 20 minutes incubation time. The experiment was repeated in the presence and absence of an inhibitor of OAT1 (200 μmol/L benzbromarone). The substrate nature of GS-331007 could not be confirmed in this experiment, as the fold accumulation was only 1.39 and did not change in the presence of the inhibitor (1.44).

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.16 O 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1、BSEP を介した相互作用試験（続き）

Report Number: AD-334-2005

Test Article: GS-331007

Report Title: In Vitro Interaction Studies of GS-331007 with Human Hepatic Transporters OCT1 and BSEP and Renal Transporters OAT1, OAT3 OCT2 and MATE1

Method:	GS-331007 was incubated with membrane vesicle preparations (total protein: 50 µg/well) and the probe substrate taurocholate (2 µmol/L) in the absence or presence of ATP. Reaction mixtures were preincubated for 15 minutes at 37°C. Reactions were started by the addition of 25 µL of 12 mmol/L MgATP, preincubated separately. Reactions were stopped after 5 min by the addition of 200 µL of ice-cold washing buffer and immediate filtration via glass fiber filters. The filters were washed, dried and the amount of substrate inside the filtered vesicles determined by liquid scintillation. CsA (20 µmol/L) was used as a positive control. Control membranes lacking the BSEP expression were used as negative control. The uptake transporter inhibition assay was conducted with GS-331007 and labeled probe substrates and transporter specific accumulation of the probe substrate in the cells was measured. Transporter expressing and parental cells were cultured and before experiments the medium was removed and cells rinsed with Krebs-Henseleit buffer pH 7.3 (pH 8.0 for MATE1). Uptake experiments were carried out at 37°C in Krebs-Henseleit buffer pH 7.3 (pH 8.0 for MATE1) containing the probe substrate and GS-331007 or the solvent. After the experiment cells were rinsed with Krebs-Henseleit buffer and lysed with 0.1 M NaOH. The amount of substrate inside the cells was determined by liquid scintillation/fluorescence reader.
---------	---

Transporter	IC ₅₀ (µmol/L)	Maximal inhibition (%) at the highest tested concentration (100 µmol/L)
BSEP	NA	No Inhibition
OAT1	>100	33%
OAT3	NA	No Inhibition
OCT1	NA	No Inhibition
OCT2	NA	No Inhibition
MATE1	NA	No Inhibition

BSEP = bile salt export pump; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; MATE = multidrug and toxin extrusion protein
Assays completed in duplicate (BSEP) or triplicate (OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, and MATE1).

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルディ[®]錠 400 mg

2.6.5.17 A 薬物動態試験：その他

イヌでのソホスブビル錠剤の製剤間比較

Report Number: SA-PSI-7977-11-0004

Location: 4.2.2.7.1

Test Article: Sofosbuvir

Report Title: Oral Crossover Pharmacokinetic Study of Three Formulations of PSI-7977 in Dogs

Species/Strain	Beagle Dog								
Sex/ No. of Animals	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	Reference Tablet			Dry Blend Tablet			Film Coated Tablet		
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time (h)	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 36, 48								
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg)	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Analyte	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007	Sofosbuvir	GS-566500	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters									
T _{max} (h)	1.0	1.3	2.0	1.0	1.3	3.3	1.5	1.3	2.0
C _{max} (ng/mL)	1894	1073	6337	3512	815	4736	1437	604	6916
AUC ₀₋₄₈ (ng·h/mL)	2480	2714	50121	4995	2184	43619	2000	1709	48269
t _{1/2} (h)	ND	2.6	7.2	0.5	2.4	14.5	0.7	2.4	6.3
(time for calculation – h)	1-4	1-11	2-45	1-5	1-10	3-45	1-5	1-15	2-48

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; M = male; ND =Not Determined (r² < 0.85 or insufficient data); PK = pharmacokinetic; t_{1/2} = estimated elimination half-life; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.17 B 薬物動態試験：その他（続き）

ソホスブビルと GS-9851 のブリッジング試験—ラット 14 日間反復投与試験（TK 試験）—

Report Number: SA-PSI-7977-09-0001 Location: [4.2.3.7.7.1](#) Test Article: Sofosbuvir and GS-9851

Report Title: A 14-Day Oral GLP Bringing Toxicity Study Comparing PSI-7851 to the Single Isomer PSI-7977 in Sprague Dawley Rats

Species/Strain	Sprague-Dawley rat					
Sex/ No. of Animals	M/7	M/7	M/7	F/7	F/7	F/7
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	5% Tween 80 and 95% PEG400 (v/v)					
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h on Day14					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	500	500	500	500	500	500
Analyte	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-9851	GS-566500	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	Sofosbuvir					
T _{max} (h)	12	4	8	1	1	4
C _{max} (ng/mL)	25.0	5744	5473	10.8	2950	4358
AUC _{last} (ng•h/mL)	ND	38480	65514	ND	13682	44431
t _{1/2} (h)	ND	2.5	ND	ND	2.1	8.8
	GS-9851					
T _{max} (h)	ND	4	6	1	1	4
C _{max} (ng/mL)	ND	6461	4837	17.7	2748	3317
AUC _{last} (ng•h/mL)	ND	37194	58710	ND	12175	35417
t _{1/2} (h)	ND	2.5	6.9	ND	2.8	7.0

ND: not determined

2.6.5 薬物動態試験概要表
ソバルデイ®錠 400 mg

2.6.5.17 C 薬物動態試験：その他（続き）

ソホスブビルと GS-9851 のブリッジング試験—イヌ 14 日間反復投与試験（TK 試験）—

Report Number: SA-PSI-7977-09-0002 Location: [4.2.3.7.7.2](#) Test Article: Sofosbuvir and GS-9851

Report Title: A 14-Day Oral GLP Bringing Toxicity Study Comparing PSI-7851 to the Single Isomer PSI-7977 in Beagle Dogs

Species/Strain	Beagle Dog					
Sex/ No. of Animals	M/2	M/2	M/2	F/2	F/2	F/2
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	Gelatin capsule					
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Sampling Time	Pre-dose, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h on Day14					
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg)	500	500	500	500	500	500
Analyte	GS-9851	GS-566500	GS-331007	GS-9851	GS-566500	GS-331007
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK Parameters	Sofosbuvir					
T _{max} (h)	3	3	4	2	2	3
C _{max} (ng/mL)	96073	11689	30716	100098	9948	29325
AUC _{last} (ng•h/mL)	239828	44479	289517	249372	40627	264860
t _{1/2} (h)	1.5	4.5	7.3	1.5	3.9	8.1
	GS-9851					
T _{max} (h)	4	4	4	3	4	5
C _{max} (ng/mL)	80113	9250	47354	80817	8309	19786
AUC _{last} (ng•h/mL)	263178	41917	627615	307436	44599	278529
t _{1/2} (h)	1.8	4.0	6.4	1.4	3.9	8.0