

CTD 第 2 部

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

MSD 株式会社

目次

	頁
表一覧.....	3
図一覧.....	5
略号及び用語の定義.....	6
2.6.4.A 薬物動態試験の概要文（グラゾプレビル）	8
2.6.4.A.1 まとめ	8
2.6.4.A.2 分析法	12
2.6.4.A.3 吸収	15
2.6.4.A.3.1 ラット	15
2.6.4.A.3.2 ウサギ	16
2.6.4.A.3.3 イヌ	17
2.6.4.A.4 分布	19
2.6.4.A.4.1 組織分布（ラット）	19
2.6.4.A.4.2 組織分布（イヌ）	21
2.6.4.A.4.3 血漿蛋白結合	22
2.6.4.A.4.4 血球移行性	24
2.6.4.A.4.5 胎盤通過	24
2.6.4.A.5 代謝	25
2.6.4.A.5.1 In vivo	26
2.6.4.A.5.1.1 ラット	26
2.6.4.A.5.1.2 ウサギ	26
2.6.4.A.5.1.3 イヌ	27
2.6.4.A.5.1.4 ヒト	28
2.6.4.A.5.2 In vitro	30
2.6.4.A.6 排泄	31
2.6.4.A.6.1 ラット	31
2.6.4.A.6.2 ウサギ	31
2.6.4.A.6.3 イヌ	31
2.6.4.A.6.4 ヒト	32
2.6.4.A.6.5 乳汁排泄（ラット）	32
2.6.4.A.7 薬物動態学的薬物間相互作用	33
2.6.4.A.7.1 グラゾプレビルの消失に関与する薬物代謝酵素及びトランスポーター	33
2.6.4.A.7.2 薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する阻害	34
2.6.4.A.7.3 CYP450の誘導	37
2.6.4.A.7.4 アトルバスタチンに対するグラゾプレビルの薬物間相互作用	38

2.6.4.A.7.5	グラゾプレビルに対する HIV プロテアーゼ阻害薬の薬物間相互作用	39
2.6.4.A.8	その他の薬物動態試験	40
2.6.4.A.9	考察及び結論	41
2.6.4.B	薬物動態試験の概要文（エルバスビル）	43
2.6.4.B.1	まとめ	43
2.6.4.B.2	分析法	43
2.6.4.B.3	吸収	46
2.6.4.B.3.1	ラット	46
2.6.4.B.3.2	ウサギ	47
2.6.4.B.3.3	イヌ	48
2.6.4.B.3.4	サル	50
2.6.4.B.4	分布	51
2.6.4.B.4.1	組織分布（ラット）	51
2.6.4.B.4.2	血漿蛋白結合	52
2.6.4.B.4.3	血球移行性	52
2.6.4.B.4.4	胎盤通過（ラット及びウサギ）	53
2.6.4.B.5	代謝	54
2.6.4.B.5.1	In vivo	55
2.6.4.B.5.1.1	ラット	55
2.6.4.B.5.1.2	ウサギ	55
2.6.4.B.5.1.3	イヌ	56
2.6.4.B.5.1.4	ヒト	57
2.6.4.B.5.2	In vitro	58
2.6.4.B.6	排泄	59
2.6.4.B.6.1	ラット	59
2.6.4.B.6.2	ウサギ	59
2.6.4.B.6.3	イヌ	59
2.6.4.B.6.4	ヒト	60
2.6.4.B.6.5	乳汁排泄（ラット）	60
2.6.4.B.7	薬物動態学的薬物間相互作用	61
2.6.4.B.7.1	エルバスビルの消失に関与する薬物代謝酵素及びトランスポーター	61
2.6.4.B.7.2	薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する阻害	62
2.6.4.B.7.3	チトクローム P450の誘導	63
2.6.4.B.8	その他の薬物動態試験	64
2.6.4.B.9	考察及び結論	65

表一覧

	頁
表 2.6.4: 1	グラゾプレビル及びエルバスビルの非臨床薬物動態試験結果の要約 8
表 2.6.4.A-1	グラゾプレビルの測定法の真度及び精度 (GLP に従った測定) 12
表 2.6.4.A-2	各試験で用いたグラゾプレビルの測定法 (GLP に従った測定) 13
表 2.6.4.A-3	雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの薬物動態パラメータ [†] 15
表 2.6.4.A-4	雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの薬物動態パラメータ [†] 17
表 2.6.4.A-5	雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを単回経口投与した際の血漿及び肝臓中のグラゾプレビルの薬物動態パラメータ 20
表 2.6.4.A-6	イヌにグラゾプレビルを単回経口投与した際の血漿及び肝臓中薬物動態 21
表 2.6.4.A-7	ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿におけるグラゾプレビルの蛋白非結合型分率 (in vitro) 22
表 2.6.4.A-8	ヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白に対するグラゾプレビルの非結合型分率 (in vitro) 22
表 2.6.4.A-9	重度腎機能障害者、末期腎不全者及び健康被験者にグラゾプレビル100 mg 及びエルバスビル50 mg を10日間反復経口投与した際のグラゾプレビルの血漿蛋白非結合型分率 (in vitro) 23
表 2.6.4.A-10	軽度、中等度及び重度肝機能障害者並びに健康被験者にグラゾプレビル200 mg を10日間反復経口投与した際のグラゾプレビルの血漿蛋白非結合型分率 (in vitro) 23
表 2.6.4.A-11	妊娠ラットにグラゾプレビル200 mg/kg を1日2回経口投与並びに妊娠ウサギにグラゾプレビル100 mg/kg/日を静脈内投与した際の母動物及び胎児におけるグラゾプレビルの血漿中濃度 24
表 2.6.4.A-12	試験動物種及びヒトの排泄物中から検出されたグラゾプレビル及びその代謝物 (放射能検出器付き HPLC) 29
表 2.6.4.A-13	グラゾプレビルの共有蛋白結合 (in vitro) 30
表 2.6.4.A-14	ラット、ウサギ、イヌ及びヒトに ^[3H] 又は ^[14C] グラゾプレビルを単回静脈内又は経口投与した際の放射能の累積排泄率 32
表 2.6.4.A-15	グラゾプレビルの酵素及びトランスポーターに対する阻害能 36
表 2.6.4.A-16	ヒト肝細胞とのインキュベーションにおけるピタバスタチン及びアトルバスタチンの取り込みに対するグラゾプレビル及びリファンピシンの阻害作用 38
表 2.6.4.A-17	臨床用量 (200 mg) のグラゾプレビル及び HIV プロテアーゼ阻害薬の薬物間相互作用データに基づく HIV プロテアーゼ阻害薬の OATP1B1及び

	OATP1B3に対する IC ₅₀ 値及び R 値 [†]	40
表 2.6.4.B-1	エルバスビルの測定法の真度及び精度 (GLP に従った測定)	43
表 2.6.4.B-2	各試験で用いたエルバスビルの測定法 (GLP に従った測定)	44
表 2.6.4.B-3	雄性 Wistar Han ラットにエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの薬物動態パラメータ [†]	46
表 2.6.4.B-4	雄性ビーグル犬にエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの薬物動態パラメータ [†]	49
表 2.6.4.B-5	雄性カニクイザルにエルバスビルを静脈内投与した際のエルバスビルの薬物動態パラメータ [†]	50
表 2.6.4.B-6	雄性 Wistar Han ラットにエルバスビル30 mg/kg を経口投与した際のエルバスビルの血漿、肝臓及び脑中薬物動態	52
表 2.6.4.B-7	妊娠ラット及びウサギにエルバスビル1000 mg/kg/日を経口投与した際の母動物及び胎児血漿中薬物濃度	53
表 2.6.4.B-8	試験動物種及びヒトの排泄物中から検出されたエルバスビル及びその代謝物 (放射能検出器付き HPLC)	57
表 2.6.4.B-9	ラット、ウサギ、イヌ及びヒトに[³ H]又は[¹⁴ C]エルバスビルを単回静脈内又は経口投与した際の放射能の排泄	60
表 2.6.4.B-10	CYP3A4によるエルバスビルの代謝物 (m2／m3) 生成の反応速度	61
表 2.6.4.B-11	エルバスビルの酵素及びトランスポーターに対する阻害能	63

図一覧

	頁
図 2.6.4: 1	[³ H]グラゾプレビル、[¹⁴ C]グラゾプレビル、[³ H]エルバスビル及び[¹⁴ C]エルバスビルの化学構造式 11
図 2.6.4.A-1	雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの血漿中濃度推移 16
図 2.6.4.A-2	雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの血漿中濃度推移 18
図 2.6.4.A-3	雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを経口投与した際のグラゾプレビルの血漿及び肝臓中濃度推移 20
図 2.6.4.A-4	雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを経口投与した際のグラゾプレビルの血漿及び肝臓中濃度推移 21
図 2.6.4.A-5	マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるグラゾプレビルの推定代謝経路 25
図 2.6.4.A-6	無処置ラットに[³ H]グラゾプレビル20 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物（投与後6時間）の代表的なラジオクロマトグラム 26
図 2.6.4.A-7	胆管カニューレ処置イヌに[¹⁴ C]グラゾプレビル0.5 mg/kg を静脈内投与した際に得られた血漿抽出物（投与後1時間）の代表的なラジオクロマトグラム 27
図 2.6.4.A-8	ヒトに[¹⁴ C]グラゾプレビル186～188 mg/kg を経口投与した際（投与後3及び8時間）に得られた血漿抽出物の代表的なラジオクロマトグラム 29
図 2.6.4.B-1	雄性 Wistar Han ラットにエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの血漿中薬物濃度推移 47
図 2.6.4.B-2	雄性ビーグル犬にエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの血漿中薬物濃度推移 49
図 2.6.4.B-3	雄性カニクイザルにエルバスビル1 mg/kg を静脈内投与した際のエルバスビルの血漿中薬物濃度推移 50
図 2.6.4.B-4	マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるエルバスビルの推定代謝経路 54
図 2.6.4.B-5	胆管カニューレ処置したラットに[³ H]エルバスビル30 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物（1～8時間のプール）の代表的ラジオクロマトグラム 55
図 2.6.4.B-6	胆管カニューレ処置したイヌに[¹⁴ C]エルバスビル2 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物（投与後24時間）の代表的ラジオクロマトグラム 56
図 2.6.4.B-7	ヒトに[¹⁴ C]エルバスビル50 mg を経口投与した際に得られたプール血漿抽出物（投与後3及び8時間）の代表的なラジオクロマトグラム 58

略号及び用語の定義

略語	定義	
MK-5172, [REDACTED]	grazoprevir	グラゾプレビル
MK-8742, [REDACTED]	elbasvir	エルバスビル
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BEI	Biliary excretion index	胆汁排泄指数
b.i.d.	Twice-daily dosing	1日2回投与
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸トランスポーター
CatA	Cathepsin A	カテプシン A
CES	Carboxylesterase	カルボキシエステラーゼ
CL _{biliary}	Biliary Clearance	胆汁クリアランス
CL _p	Plasma clearance	血漿クリアランス
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
F	Oral bioavailability	経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ
GD	Gestation day	妊娠日
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GSH	Glutathione-SH	還元型グルタチオン
HCV	Hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィ
HRMS	High-resolution mass spectrometry	高分解能質量分析法
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
[I] _{gut}	Maximal theoretical concentration in the gut	腸管内の理論上の最高濃度
LC/MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィ／タンデム質量分析法
LD	Lactation day	授乳日
LLC-PK	Lilly laboratory cells-porcine kidney	ブタ腎臓近位尿細管由来の上皮細胞株
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
MDR1	Multidrug resistance protein 1	多剤耐性関連蛋白1
MDCK	Madin-Darby canine kidney	メイディン・ダービー・イヌ腎臓
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MRP	Multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連蛋白
NADPH	β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

略語	定義	
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PBPK	Physiologically-based pharmacokinetic(s)	生理学的薬物動態
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
q.d.	Once daily dosing	1日1回投与
rCYP	Recombinant cytochromeP450	遺伝子組換え型チトクローム P450
t _{1/2}	Elimination half-life	見かけの終末相消失半減期
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyltransferase	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
V _{dss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.A 薬物動態試験の概要文（グラゾプレビル）

2.6.4項では、グラゾプレビルの項番号には A を、エルバスビルの項番号には B を付け、グラゾプレビル、エルバスビルの順番に記載した。なお、まとめ、並びに考察及び結論については両化合物物について併せて記載し、記載箇所はグラゾプレビルの各項[2.6.4.A.1 項]及び[2.6.4.A.9 項]とした。

2.6.4.A.1 まとめ

本稿ではグラゾプレビル及びエルバスビルの非臨床薬物動態データをまとめた。データの要約を[表2.6.4: 1]に示す。

表 2.6.4: 1 グラゾプレビル及びエルバスビルの非臨床薬物動態試験結果の要約

薬物動態	グラゾプレビル	エルバスビル
CL _p (mL/min/kg)	中程度 ラット：27.8 イヌ：5.2	中程度 ラット：24 イヌ：8.4
V _{dss} (L/kg)	中程度 ラット：3.1 イヌ：0.7	中程度 ラット：5.0 イヌ：3.0
t _{1/2} (hr)	ラット：1.4 イヌ：3	ラット：4.2 イヌ：7.7
経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ (F) (%)	ラット：12 イヌ：13	ラット：3～9 イヌ：35
組織分布 (ラット)	主に肝臓	P-gp による輸送経路の影響を受けるほとんどの組織
血漿中非結合分画	ラット：0.016 イヌ：0.009 ヒト：0.012	ラット：<0.001 イヌ：<0.001 ヒト：<0.001
血液／血漿中濃度比	ラット：0.61 イヌ：0.47 ヒト：0.67	ラット：0.61 イヌ：0.94 ヒト：0.62
胎盤通過 (ラット及びウサギ)	有	有
乳汁排泄 (授乳ラット)	有	有
ラット及びイヌにおける主要排泄経路	未変化体排泄 及び 酸化的代謝	未変化体排泄 及び 酸化的代謝
血中代謝物	無	無
非臨床試験動物種で生成された代謝物のヒトでの生成	有	有
基質 §	CYP3A, P-gp, OATP1B1及び OATP1B3	CYP3A 及び P-gp
薬物代謝酵素／トランスポーターの阻害／誘導 §	CYP3A 及び BCRP (主に腸管内で全身性ではない) を阻害する可能性があるが、他の主要酵素／トランスポーターの阻害薬ではない。 CYP 誘導能はない。	BCRP 及び P-gp (腸管内) を阻害する可能性があるが、他の主要酵素／トランスポーターの阻害薬ではない。 CYP 誘導能はない。

§ In vitro 試験及び臨床薬物間相互作用試験のデータに基づく。

グラゾプレビル（MK-5172又は[]）[図2.6.4: 1]は、C型肝炎ウイルス（HCV）プロテアーゼに対する強力な阻害薬、また、エルバスビル（MK-8742又は[]）[図2.6.4: 1]は、HCVの非構造蛋白5A（NS5A）に対する強力な阻害薬であり、これらの薬物を併用投与するHCV感染の治療薬を開発中である。本項では、非臨床毒性試験で選択された動物種であるWistar Hanラット、Dutch-Beltedウサギ及びビーグル犬における、グラゾプレビル及びエルバスビルの薬物動態（吸収、分布、代謝及び排泄）について述べる。なお、エルバスビルの静脈内投与時の薬物動態については、アカゲザルでも検討した。また、ヒトにおけるグラゾプレビル及びエルバスビルの蛋白結合、代謝及び排泄についても検討し、非臨床試験動物種との結果と比較した。実施した試験の包括的な概要を[2.6.5.A.1 項]及び[2.6.5.B.1 項]に示す。

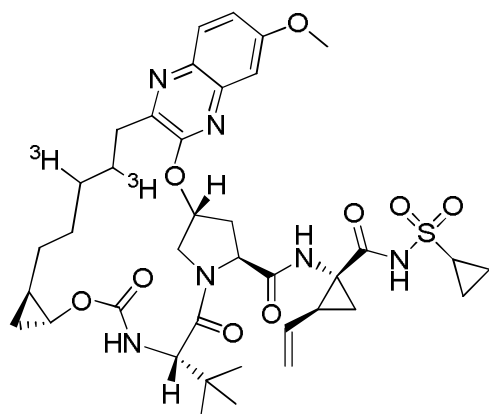
グラゾプレビルのラット、ウサギ及びイヌの経口投与では、グラゾプレビルの[]を100%ポリエチレングリコール400（PEG400）で調製して用いた。また、ラット及びイヌの静脈内投与では100%PEG200を溶媒として用いた。ラットの全身オートラジオグラフィ、並びにイヌ及びヒトにおける排泄及び代謝試験では、 $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビルを用いた。また、in vitro 代謝試験では、 $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル又は $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビルのいずれかを用いた。他のすべての代謝、排泄及び組織分布試験には、 $[^3\text{H}]$ グラゾプレビルを用いた。

エルバスビルのラットへの経口投与では、エルバスビル（アモルファス）の[]製剤（[]薬物、[]）を、20 mM クエン酸塩緩衝剤で pH4に調整した0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロースに添加して用いた。同様に、イヌへの経口投与では、10% Tween／90% PEG400を、ウサギへの経口投与では、10% Tween／90%水を各々溶媒とし、エルバスビル（アモルファス）の調製に用いた。また、ラットの静脈内投与では3%ジメチルアセトアミド／97% 40%ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリンを、イヌ及びサル（ヒト）の静脈内投与では20%ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリンを溶媒とし、エルバスビルの調製に用いた。 $[^3\text{H}]$ エルバスビルをラットに経口投与した排泄及び代謝試験を除き、他のすべての代謝、排泄及び組織分布試験では、 $[^{14}\text{C}]$ エルバスビルを用いた。

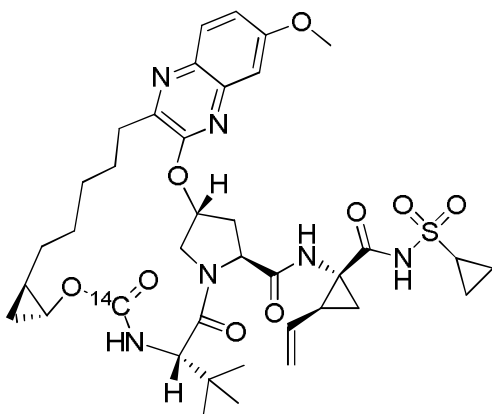
非臨床薬物動態試験の結果、ラット及びイヌにおいて、グラゾプレビル及びエルバスビルの血漿クリアランス（ CL_p ）は中程度（グラゾプレビルで各々27.8及び5.2 mL/min/kg、エルバスビルで各々24及び8.4 mL/min/kg）、分布容積（ V_{dss} ）は中程度（グラゾプレビルで各々3.1及び0.7 L/kg、エルバスビルで各々5.0及び3.0 L/kg）、見かけの終末相消失半減期（ $t_{1/2}$ ）はグラゾプレビルでは短く（各々1.4及び3時間）、エルバスビルではグラゾプレビルに比べてわずかに長かった（各々4.2及び7.7時間）。また、サルにおけるエルバスビルの薬物動態を検討した結果、 CL_p （5.2 mL/min/kg）、 V_{dss} （2.7 L/kg）及び $t_{1/2}$ （16時間）は中程度であった。ラット及びイヌにおける、グラゾプレビル及びエルバスビルの経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ（F）はいずれも小さいか若しくは中程度で（グラゾプレビルで12%～13%、エルバスビルで3%～35%）、吸収が高くないことに加え、初回通過効果によって制限されたと考えられる。グラゾプレビルは HCV の治療にとって重

要な肝臓に選択的に分布し、他の組織にはあまり分布しなかった。一方、エルバスビルは大部分の組織に広く分布したが、P-糖蛋白（P-gp）による輸送経路の影響を受ける臓器への分布はわずかであった。有色ラットにおける分布試験では、エルバスビルがメラニンに結合する可能性が認められたが、有色ラットの光毒性試験では光毒性の可能性はみられなかった。試験動物種及びヒトにおいて、グラゾプレビル及びエルバスビルの血漿蛋白結合率は高く（非結合型分率はグラゾプレビルで0.009～0.016、エルバスビルで<0.001）、血球にはあまり結合しなかった（血液／血漿中濃度比は、グラゾプレビルで0.5～0.7、エルバスビルで0.6～0.9）。グラゾプレビル及びエルバスビルは、いずれも妊娠ラット及びウサギの胎盤を通過し、授乳ラットの乳汁中に排泄された。ラット及びイヌにおいて、グラゾプレビル及びエルバスビルは酸化代謝物としてだけでなく、未変化体として主に腸管及び胆汁中に排泄された。ヒトにおけるグラゾプレビル及びエルバスビルの未変化体及び酸化代謝物の排泄経路も同様に、腸管及び胆汁への排泄が考えられた。グラゾプレビル及びエルバスビルとも、試験動物種（ウサギで微量のグラゾプレビル酸化代謝物が検出）及びヒトにおいて循環血中に代謝物は検出されなかった。また、いずれの化合物についても、ヒトの *in vivo* 及び *in vitro* で生成されたすべての主要酸化代謝物は動物でも認められた。試験したすべての動物種及びヒトにおいて、両化合物とも、経口投与後に尿中に排泄された薬物由来物質はわずか（投与量の4%未満）であった。

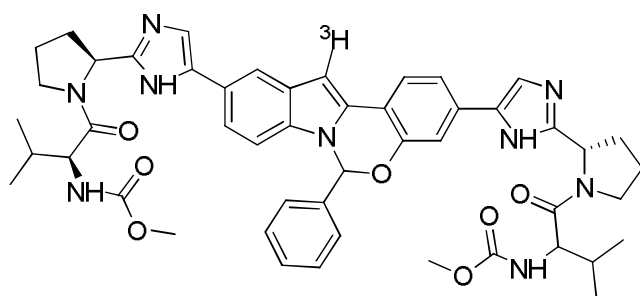
In vitro において、グラゾプレビル及びエルバスビルは CYP3A 及び P-gp の基質であったことから、既知の CYP3A/P-gp の阻害薬又は誘導薬を併用投与すると薬物間相互作用の影響を受ける可能性がある。また、グラゾプレビルは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質でもあり、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害薬の影響を受ける可能性がある。臨床薬物間相互作用試験では、グラゾプレビル及びエルバスビルは CYP3A/P-gp の基質であり、グラゾプレビルは OATP1B1/1B3 の基質であることが確認された[2.7.2.3.4.1 項]。したがって、グラゾプレビル及びエルバスビルを併用した際に、CYP3A/P-gp、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害薬又は誘導薬の影響を受ける可能性がある。グラゾプレビルの臨床用量100 mg のとき C_{max} は0.617 μM 、エルバスビル50 mg のとき C_{max} は0.177 μM であったことから、*in vitro* データに基づくと、グラゾプレビルは小腸 CYP3A [50%阻害濃度 (IC_{50}) = 73 μM] 及び腸管 BCRP (IC_{50} = 12.5 μM) を阻害する可能性があり、エルバスビルは P-gp (IC_{50} = 0.3 μM 、膜ベシクル試験)、OATP1B1 (IC_{50} > 0.5 μM)、OATP1B3 (IC_{50} = 0.1 μM) 及び BCRP (IC_{50} = 0.15 μM) を阻害する可能性がある。臨床薬物間相互作用試験では、グラゾプレビルは CYP3A 及び BCRP の弱い阻害薬であること、エルバスビルは P-gp 及び BCRP の弱い阻害薬だが OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害薬ではないことが示された[2.7.2.3.4.1 項]。グラゾプレビル及びエルバスビルは、他の主要な酵素（上記以外の CYP 分子種、UGT1A1 及びエステラーゼ）の阻害薬ではなく、さらに、腎排泄に関わる OAT1、OAT3 及び OCT2 を臨床用量では阻害しないと予測された。また、いずれも CYP3A4、CYP2B6 及び CYP1A2 を誘導する可能性はないことが示された。



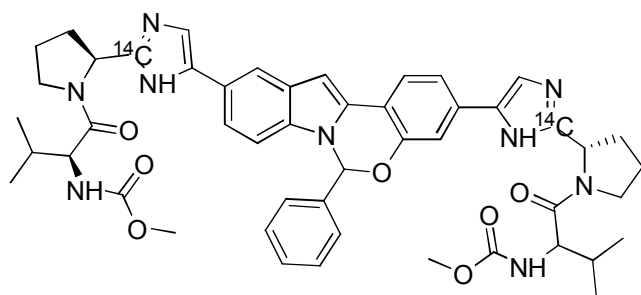
[³H]グラゾプレビル



[¹⁴C]グラゾプレビル



[³H]エルバスビル



[¹⁴C]エルバスビル

図 2.6.4: 1 [³H]グラゾプレビル、[¹⁴C]グラゾプレビル、[³H]エルバスビル
及び[¹⁴C]エルバスビルの化学構造式

³H 及び¹⁴C は各々標識位置を示す。

2.6.4.A.2 分析法

[資料4.2.2.1.1: G-PK028] (参考資料)

グラゾプレビルの薬物動態（非 GLP 薬物動態試験[2.6.4 項]）を評価するため、血漿及び肝臓中のグラゾプレビル濃度を測定した。血漿及び肝臓試料の前処理には蛋白沈殿法を、分析法には液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（LC/MS/MS）[イオン化法：Turbo Ion Spray、検出法：正イオンモード] を用いた。検討した試験における血漿中及び肝組織中での本薬の定量下限の範囲は、各々1～10 nM 及び6.5～32.6 nM であった。試料中及び高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の溶出液中の放射能を、液体シンチレーション計数法（LSC）により測定した（HPLC 溶出液はインライン型の放射能検出器を用いた）。試料中の総放射能が微量の場合は、HPLC 溶出液をシンチレーションプレートに分取し、プレートを乾燥させ Microbeta カウンターを用いて測定した。^{[3]H}グラゾプレビル及び^{[14]C}グラゾプレビルの代謝物プロファイルの検討には、放射能測定器付逆相 HPLC を使用した。代謝物の構造は質量分析法により決定した。

トキシコキネティクス試験[2.6.6 項]では、GLP を遵守しバリデートされた LC/MS/MS 法により血漿中及び肝臓中グラゾプレビル濃度を測定した[表 2.6.4.A-1] [表 2.6.4.A-2]。

表 2.6.4.A-1 グラゾプレビルの測定法の真度及び精度（GLP に従った測定）

動物種／試料	真度(%)	精度(%)
イヌ／血漿	97.5～103	2.92～6.94
イヌ／肝ホモジネート	98.2～101	1.53～7.64
ラット／血漿	95.6～104	0.57～3.34
ラット／肝ホモジネート	98.8～101	1.15～7.51
マウス／血漿	98.5～101	2.52～7.51
マウス／肝臓又は肝・胆嚢ホモジネート	97.5～101	2.66～8.62
ウサギ／母動物血漿	95.8～103	2.94～10.8
ラット／母動物血漿（クロスバリデーション） [†]	101～108 [†]	3.03～4.44 [†]
ラット／乳汁	97～103	1～11

[†]：母ラット血漿を用いて調製した異なる3濃度の品質管理用試料より得られたデータ（測定値はラット血漿に校正標準溶液を添加した試料で作成した検量線に基づき算出した）
[資料4.2.2.1.1: G-PK028] (参考資料)

表 2.6.4.A-2 各試験で用いたグラゾプレビルの測定法（GLP に従った測定）

試験番号	動物種／系統	LC/MS/MS 法	
[資料4.2.3.2.9: TT#-1151]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351
[資料4.2.3.2.10: TT#-6015]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.2、SBP 351.5
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351.7、SBP 351.9
[資料4.2.3.7.7.2: TT#-6051]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.5、SBP 351.8
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351.6、SBP 351.9
[資料4.2.3.2.4: TT#-1152]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351
[資料4.2.3.7.7.1: TT#-9002]	ラット／Long Evans (有色)	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11
[資料4.2.3.2.6: TT#-1120]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351
[資料4.2.3.2.7: TT#-6014]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.2、SBP 351.5
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351.7
[資料4.2.3.5.2.2: TT#-7050]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.5
[資料4.2.3.5.3.1: TT#-7010]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11

表 2.6.4.A-2 各試験で用いたグラゾプレビルの測定法（GLP に従った測定）（続き）

試験番号	動物種／系統	LC/MS/MS 法	
[資料4.2.2.3.5: G-TT7040]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿（妊娠20日）及び胎児血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット乳汁（授乳14日） 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.16
[資料4.2.3.5.2.10: TT7040]	ウサギ／Dutch Belted	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ウサギ血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.8
[資料4.2.3.5.2.13: TT7300]	ウサギ／Dutch Belted	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ウサギ血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11
[資料4.2.2.3.4: G-TT7420]	ウサギ／Dutch Belted	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ウサギ血漿（妊娠20日）及び胎児血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11
[資料4.2.3.2.1: TT6034]	マウス／RasH2 Wild Type	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.11
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351.12、SBP 351.13
[資料4.2.3.2.2: TT6038]	マウス／CD1	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス血漿 蛋白沈殿法 10～4000 ng/mL SBP 351.10
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス肝ホモジネート 蛋白沈殿法 80～32000 ng/g SBP 351.13
[資料4.2.2.1.1: G-PK028]（参考資料）			

2.6.4.A.3 吸収

2.6.4.A.3.1 ラット

[資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.4.1: G-PK002] [資料4.2.3.2.5: TT#-1102]
 [資料4.2.3.2.4: TT#-1152]

雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビル2 mg/kg を静脈内投与したとき、血漿中グラゾプレビル濃度は投与後二相性を示しながら低下した[図 2.6.4.A-1]。ノンコンパートメントモデル解析の結果、 CL_p は 27.8 ± 21.9 mL/min/kg、 V_{dss} は 3.1 ± 2.6 L/kg、及び $t_{1/2}$ は 1.4 ± 0.6 時間であった（平均値 ± 標準偏差）[表 2.6.4.A-3]。ラットの血液／血漿中濃度比である0.6[2.6.5.A.12 項]で CL_p を補正したとき、血液クリアランスが約46 mL/min/kg と推定され、ラットにおけるグラゾプレビルのクリアランスは中程度であった。

雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビル5 mg/kg を経口投与したとき、本薬の吸収は緩徐で、投与後4時間で C_{max} (0.3 μ M) に到達した[表 2.6.4.A-3]。経口投与後の全身曝露は低く、経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ (F) は13%であった[表 2.6.4.A-3]。なお、F は低かったが、経口投与後の未変化体及び酸化代謝物の胆汁中及び尿中排泄率から、少なくとも投与量の41%が経口吸収されたと推定された[2.6.5.A.14 項]、[2.6.5.A.17 項]。

雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビル5、25及び100 mg/kg を単回経口投与し、薬物動態の用量依存性について検討した[2.6.5.A.3 項]。曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$) は、5及び25 mg/kg の間では用量比を上回る増加を、25及び100 mg/kg の間では概して用量比例的な増加を示した[表 2.6.4.A-3]。25及び100 mg/kg のデータを比較したとき、100 mg/kg では T_{max} が遅延していたことから[表 2.6.4.A-3] [図 2.6.4.A-1]、用量増加に伴い吸収が遅延することが示唆された。

ラットを用いて、反復経口投与及び性別によるグラゾプレビルの薬物動態への影響を評価した。ラットに50 mg/kg を単回又は反復経口投与したときの曝露量 ($AUC_{0-24\text{ hr}}$) は各々 101 ± 11.1 及び 70.0 ± 32.8 μ M·hr と類似していた[表 2.6.6.A-10][表 2.6.6.A-11]。また、25 mg/kg を反復経口投与したときの曝露量は、雄で10.1 μ M·hr 及び雌で7.44 μ M·hr と類似していた[表 2.6.6.A-8]。

表 2.6.4.A-3 雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際の
 グラゾプレビルの薬物動態パラメータ[†]

投与量 (mg/kg)	投与経路	$AUC_{0-\infty}$ (μ M·hr)	CL_p (mL/min/kg)	V_{dss} (L/kg)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μ M)	T_{max} (hr)	F [‡] (%)
2	静脈内	2.3 (1.6)	27.8 (21.9)	3.1 (2.6)	1.4 (0.6)	-	-	-
5	経口	0.7 (0.3)	-	-	-	0.3 (0.1)	4.0 (0.0)	13
25	経口	61.0 (44.8)	-	-	-	12.3 (6.1)	4.0 (2.0)	-
100	経口	258 (79)	-	-	-	40.2 (9.4)	8.0 (0.0)	-

[†]: 平均値 (標準偏差)、n=3
[‡]: F は静脈内投与時の平均 $AUC_{0-\infty}$ 及び経口投与時の平均 $AUC_{0-\infty}$ より算出した。
 [2.6.5.A.3 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001]

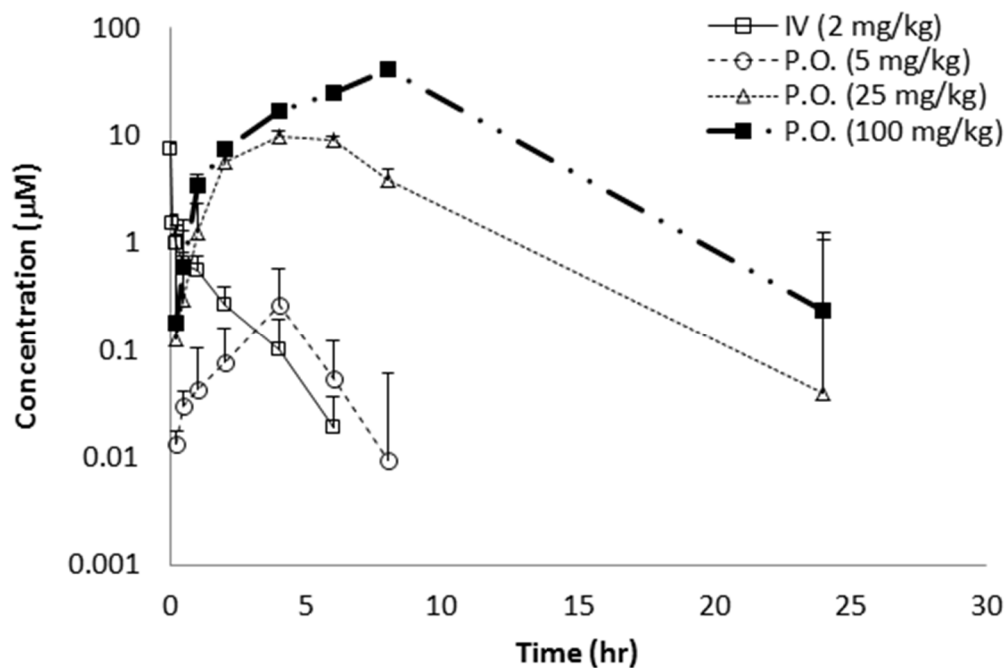


図 2.6.4.A-1 雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの血漿中濃度推移

平均値±標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.3 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001]

2.6.4.A.3.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.2: G-PK004]

雌性 Dutch-Belted ウサギ (n=3) にグラゾプレビル200 mg/kg を経口投与したとき、血漿中濃度における C_{max} 、 T_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の平均値±標準偏差は、各々 $8.0 \pm 13 \mu\text{M}$ 、 1.5 ± 2.2 時間及び $68 \pm 113 \mu\text{M} \cdot \text{hr}$ であった[2.6.5.A.3 項]。

2.6.4.A.3.3 イヌ

[資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.4.4: G-PK018] [資料4.2.3.2.10: TT#-6015]

雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際の薬物動態を検討した[表 2.6.4.A-4] [図 2.6.4.A-2]。

グラゾプレビル0.5 mg/kg を静脈内投与したとき、 CL_p は5.2 mL/min/kg、 V_{dss} は0.7 L/kg、及び $t_{1/2}$ は3時間であった[表 2.6.4.A-4]。イヌの血液／血漿中濃度比である0.47 [2.6.5.A.12 項] を基に、血液クリアランスは11 mL/min/kg と推定され、イヌにおけるクリアランスは中程度であった。

グラゾプレビル1 mg/kg を経口投与した際の F は、ラットと同様、12%と低かった[表 2.6.4.A-4]。胆管カニューレ処置したイヌにおいて、胆汁及び尿中の薬物由来放射能の排泄率が経口投与時で31%、静脈内投与時で75%であったことから、少なくとも投与量の約40%が経口吸収されたと推定された[2.6.5.A.17 項]。初回通過効果に加えて吸収が高くないため、 F が低いものと考えられる。

グラゾプレビルを経口投与した際の薬物動態は非線形を示した。 AUC は、1及び5 mg/kg の間では用量比を上回る増加を、5～30 mg/kg の間では概して用量比例的な増加を示した[表 2.6.4.A-4]。雄又は雌性イヌに反復経口投与した際の曝露量は単回投与した際と類似していたことから[2.6.6.A.3.10 項] [表2.6.6.A-28] [表2.6.6.A-29]、反復投与による蓄積又は誘導がないこと、並びにグラゾプレビルの薬物動態に性差がないことが示唆された。

表 2.6.4.A-4 雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際の
グラゾプレビルの薬物動態パラメータ[†]

投与量 (mg/kg)	投与経路	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu M \cdot hr$)	CL_p (mL/min/kg)	V_{dss} (L/kg)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μM)	T_{max} (hr)	$F^{\ddagger}$ (%)
0.5	静脈内	2.3 (0.9)	5.2 (1.7)	0.7 (0.1)	3.0 (0.8)	-	-	-
1	経口	0.4 [§] (0.3)	-	-	-	0.1 (0.1)	4.7 (1.2)	12 (9)
5	経口	41.3 (31.8)	-	-	-	7.1 (4.1)	2.0 (0.0)	-
10	経口	66.9 (82.7)	-	-	-	10.3 (11.6)	2.3 (1.5)	-
20	経口	237 (139)	-	-	-	25.6 (15.2)	2.7 (1.2)	-
30	経口	486 (420)	-	-	-	42.5 (33.4)	2.7 (1.2)	-

[†]: 平均値 (標準偏差)、n=3
[‡]: F はクロスオーバーデザインを用いて個体ごとに算出した。
[§]: $AUC_{0-6 hr}$ (データ不十分につき終末消失相の傾きの評価が困難であったため。)
[2.6.5.A.3 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001]

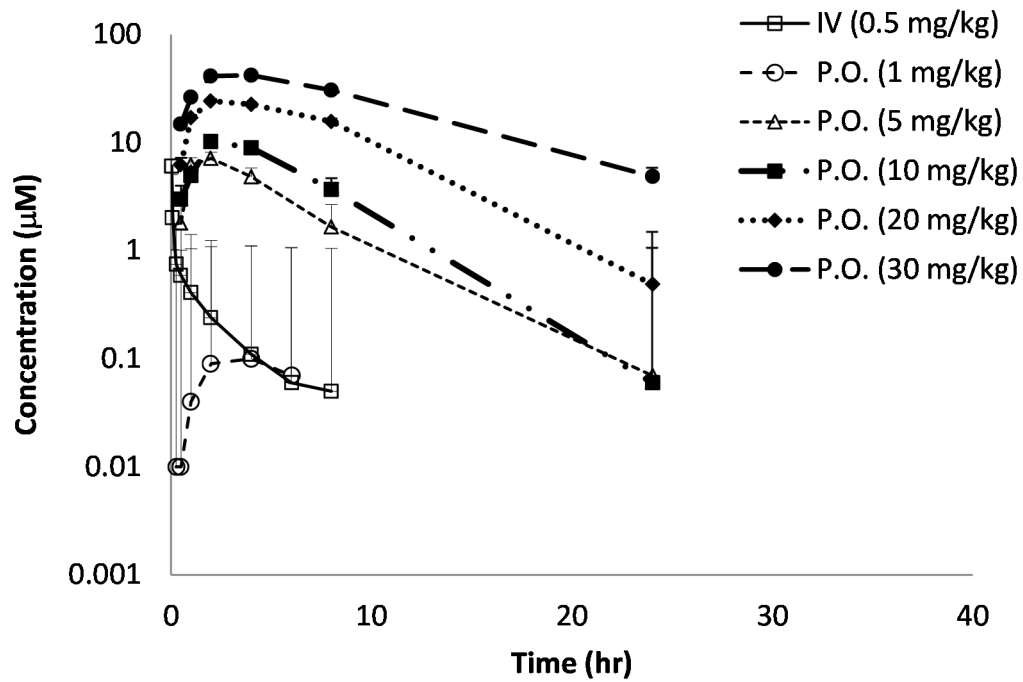


図 2.6.4.A-2 雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを静脈内及び経口投与した際のグラゾプレビルの血漿中濃度推移

平均値±標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.3 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001]

2.6.4.A.4 分布

2.6.4.A.4.1 組織分布（ラット）

[資料4.2.2.3.2: G-PK015] [資料4.2.2.4.1: G-PK002] [資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]

雄性白色ラット（Wistar Han）及び雄性有色ラット（Long Evans）に $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビル50 mg/kgを単回経口投与し、全身オートラジオグラフィにより、白色ラットでは投与後4、8、24、72、168及び336時間、有色ラットでは投与後8、24、168及び672時間の薬物由来放射能の組織分布について検討した[2.6.5.A.4 項]。グラゾプレビルの分布は、有色及び白色ラットともに類似していた[2.6.5.A.4 項] [2.6.5.A.5 項]。薬物由来放射能は、消化管及び肝臓で主に認められ、他の組織への分布はわずかであった。投与後8時間の時点で、肝臓には投与量（50 mg/kg）の約14%～18%が分布すると推定された[2.6.5.A.4 項] [2.6.5.A.5 項]。肝臓への選択的な分布は、グラゾプレビルがラット摘出肝細胞へ促進的に取り込まれたこと、及びグラゾプレビルがラットの OATP1B2の基質であることと一致する[2.6.5.A.21 項] [2.6.5.A.22 項]。本試験において、小脳、大脳及び脊髄などの中枢神経系の放射能濃度が測定可能な濃度を下回っていることから、薬物由来放射能が血液脳関門を容易に通過しないと考えられる[2.6.5.A.4 項] [2.6.5.A.5 項]。このことは、グラゾプレビルが P-gp の基質であることと一貫している[2.6.5.A.23 項]。いずれの系統のラットにおいても、投与後8時間の測定時点で放射エネルギーが最大となった。大部分の組織で投与後24時間までに放射能がほぼ完全に消失し、投与後168時間までに消化管及び肝臓を含むすべての組織から放射能が消失した[2.6.5.A.4 項] [2.6.5.A.5 項]。

Wistar Han ラットに $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル5 mg/kg を経口投与した探索的試験でも、類似したパターンの組織分布が観察された[2.6.5.A.6 項]。

ラットにおいてグラゾプレビルがほぼ肝臓のみに分布すること、及び肝臓が HCV 治療の標的臓器であることから、血漿中及び肝臓中薬物動態の関係を理解するためにこれらを詳細に検討した。血漿中濃度が定量可能であり線形の薬物動態を示す用量範囲内で血漿中及び肝臓中薬物動態を調べるため、低用量の5 mg/kg を選択し、経口投与した。[表 2.6.4.A-3] [図 2.6.4.A-1]。また、高用量の非線形（用量比例性を上回る）用量範囲での PK を調べるため、25及び100 mg/kg を選択した。すべての用量及び測定時点で、肝臓中グラゾプレビル濃度は血漿中濃度より高かった[図 2.6.4.A-3]。血漿中濃度が0.1 μM 未満のときは肝臓／血漿中濃度比が約400であったのに対し、51.1 μM のときには5まで低下したことから、肝取り込みの飽和が示唆された[2.6.5.A.7 項]。この肝取り込みの飽和は、血漿中薬物動態の非線形性（用量比例性を上回る）の一因と考えられる。HCV 患者に予定臨床用量100 mg を投与したときの血漿中濃度の C_{max} は0.617 μM [2.7.2.3.1.1 項]であり、ラットでは臨床での血漿中濃度で見かけの飽和が生じた。血漿中濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ は5及び25 mg/kg の間で用量比を上回る増加を示したが、肝臓中濃度の $\text{AUC}_{0-\infty}$ は5及び25 mg/kg の間で用量比例的な増加を、25及び100 mg/kg の間では用量比を下回る増加を示した[表 2.6.4.A-5]。5 mg/kg を経口投与したとき、血漿及び肝臓中濃度はいずれも一相性を示しながら低下したが並行した低下ではなく、肝臓中濃度は血漿中濃度より緩やかに消失した[図 2.6.4.A-3]。また、25 mg/kg では、血漿及び肝臓中濃度は二相性を示しながら低下し、終末消失相では並行した推移を示し、 $t_{1/2}$ は約

7時間と推定された [表 2.6.4.A-5] [図 2.6.4.A-3]。

表 2.6.4.A-5 雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを単回経口投与した際の
 血漿及び肝臓中のグラゾプレビルの薬物動態パラメータ

用量	5 mg/kg			25 mg/kg			100 mg/kg		
	血漿	肝臓	肝臓 ／血漿	血漿	肝臓	肝臓 ／血漿	血漿	肝臓	肝臓 ／血漿
AUC _{0-∞} (μM・hr)	1.0	242	242	127	1697	13	352	3142	9
t _{1/2} (hr)	0.9	3.0	—	7.4	7.3	—	8.7	8.4	—
平均値 (n=3) [2.6.5.A.7 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]									

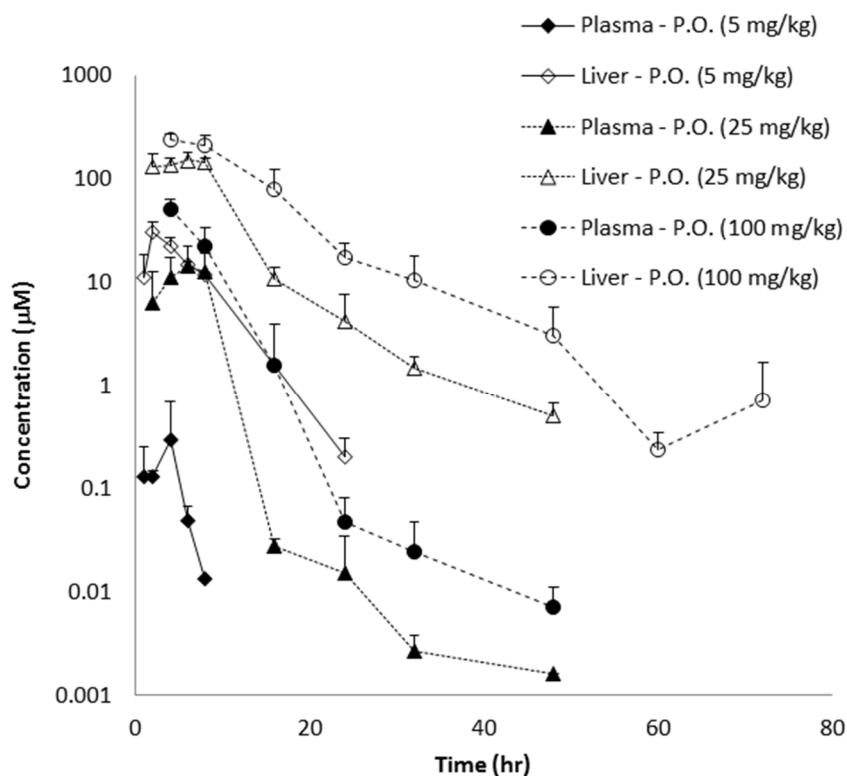


図 2.6.4.A-3 雄性 Wistar Han ラットにグラゾプレビルを経口投与した際の
 グラゾプレビルの血漿及び肝臓中濃度推移

平均値 (n=3) [2.6.5.A.7 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]

2.6.4.A.4.2 組織分布（イヌ）

[資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]

イヌにグラゾプレビル1又は5 mg/kg を経口投与した際の血漿及び肝臓中薬物動態を[表 2.6.4.A-6]及び[図 2.6.4.A-4]に示す。投与量は、臨床での濃度範囲であることに加え、薬物動態試験において血漿中濃度が定量可能であった1 mg/kg を低用量とした。また、血漿中薬物動態が非線形で曝露量が用量比例性を上回る増加を示す5 mg/kg を高用量として選択した[表 2.6.4.A-4]。

1及び5 mg/kg のいずれを投与した際も、すべての測定時点で肝臓中グラゾプレビル濃度は血漿中濃度より高かった[図 2.6.4.A-4]。血漿中濃度が約0.04 μM 未満のときは肝臓／血漿中濃度比が約70であったのに対し、8.33 μM のときには5まで低下したことから、ラットと同様に肝取り込みの飽和が示唆された[2.6.5.A.8 項]。血漿及び肝臓中グラゾプレビル濃度は並行して低下し、終末消失相の肝クリアランスは終末消失相の血漿クリアランスによって説明できることが示唆された[図 2.6.4.A-4]。本試験において血漿及び肝臓中濃度の $t_{1/2}$ は約9時間と推定された[表 2.6.4.A-6]。

表 2.6.4.A-6 イヌにグラゾプレビルを単回経口投与した際の血漿及び肝臓中薬物動態

	1 mg/kg 経口投与			5 mg/kg 経口投与		
	血漿	肝臓	肝臓／血漿	血漿	肝臓	肝臓／血漿
$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{M}\cdot\text{hr}$)	3.5 ± 0.6	127 ± 18	36	44 ± 7	356 ± 63	8
$t_{1/2}$ (hr)	6.9 ± 0.4	7.0 ± 0.6	—	8.8 ± 2.7	9.4 ± 2.6	—
平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.8 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]						

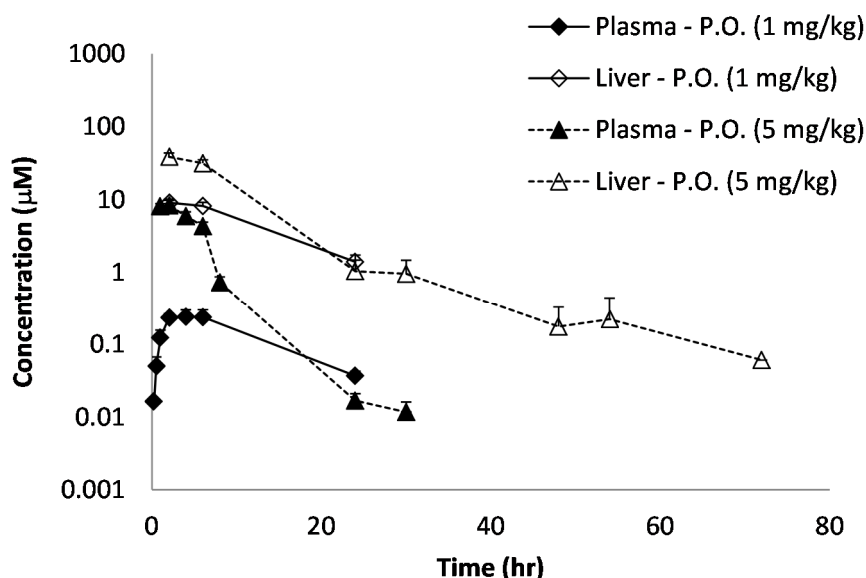


図 2.6.4.A-4 雄性ビーグル犬にグラゾプレビルを経口投与した際のグラゾプレビルの血漿及び肝臓中濃度推移

平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.8 項] [資料4.2.2.2.1: G-PK001] [資料4.2.2.3.1: G-PK005]

2.6.4.A.4.3 血漿蛋白結合

[資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.2.2: G-PK004] [資料4.2.2.3.6: G-PK021] [資料4.2.2.3.3: G-PK020]

グラゾプレビルの血漿蛋白結合を、平衡透析法を用いて評価した[表 2.6.4.A-7]。グラゾプレビルの蛋白結合率は高く、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおける平均非結合型分率は0.009～0.016であった[表 2.6.4.A-7]。血漿蛋白結合率は、すべての動物種において薬物濃度（0.1～10 μM ）に非依存的であった[表 2.6.4.A-7]。

表 2.6.4.A-7 ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿におけるグラゾプレビルの蛋白非結合型分率
(in vitro)

動物種	血漿蛋白非結合型分率			
	0.1 μM グラゾプレビル	1 μM グラゾプレビル	10 μM グラゾプレビル	平均
ラット	0.016 $\pm$ 0.001	0.016 $\pm$ 0.002	0.018 $\pm$ 0.002	0.016 $\pm$ 0.002
ウサギ	0.016 $\pm$ 0.003	0.014 $\pm$ 0.002	0.013 $\pm$ 0.001	0.014 $\pm$ 0.001
イヌ	0.008 $\pm$ 0.001	0.009 $\pm$ 0.001	0.009 $\pm$ 0.000	0.009 $\pm$ 0.001
ヒト	0.012 $\pm$ 0.003	0.013 $\pm$ 0.000	0.012 $\pm$ 0.001	0.012 $\pm$ 0.001
平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.9 項] [資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.2.2: G-PK004]				

主要なヒト血漿蛋白であるヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白へのグラゾプレビルの結合を、平衡透析法にて評価した[表 2.6.4.A-8]。検討濃度は、ヒト血清アルブミンを40 mg/mL、 α_1 -酸性糖蛋白を1 mg/mL の生理学的濃度とした。グラゾプレビルはヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白に結合し、10 μM までの濃度で飽和はみられなかった[表 2.6.4.A-8]。

表 2.6.4.A-8 ヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白に対する
グラゾプレビルの非結合型分率 (in vitro)

ヒト血漿蛋白	血漿蛋白非結合型分率	
	グラゾプレビル (1 μM)	グラゾプレビル (10 μM)
ヒト血清アルブミン (40 mg/mL)	0.027 $\pm$ 0.002	0.025 $\pm$ 0.002
α_1 -酸性糖蛋白 (1 mg/mL)	0.11 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02
平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.10 項] [資料4.2.2.3.6: G-PK021]		

重度の腎機能障害者、透析実施中の末期腎不全者及び健康被験者の血漿（MK-5172-050試験）[2.7.2.2.3.1.4 項]を用いて、グラゾプレビルの血漿蛋白結合を評価した[資料4.2.2.3.6: G-PK021]。グラゾプレビルの非結合型分率は、重度腎機能障害者、末期腎不全者及び健康被験者で類似していたことから、腎機能障害による血漿蛋白結合への影響がないことが示唆された[表 2.6.4.A-9]。

表 2.6.4.A-9 重度腎機能障害者、末期腎不全者及び健康被験者にグラゾプレビル 100 mg 及びエルバスビル 50 mg を 10 日間反復経口投与した際のグラゾプレビルの血漿蛋白非結合型分率 (in vitro)

被験者	血漿蛋白非結合型分率		
	Day 10 投与後3時間	Day 10 投与後8時間	Day 10 投与後3及び8時間の 算術平均
重度腎機能障害者	0.021 ± 0.005	0.022 ± 0.004	0.022 ± 0.004
透析実施中の末期腎不全者	0.020 ± 0.005	0.016 ± 0.005	0.018 ± 0.005
健康被験者	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.003
平均値 ± 標準偏差 (n=8) 透析実施中の末期腎不全者については、投与後3時間の時点は透析前、投与後8時間の時点は透析開始3時間後であった。 エルバスビルの結果は[2.6.4.B.4.2 項]に記載した [2.6.5.A.11 項] [資料4.2.2.3.6: G-PK021]			

様々な程度の肝機能障害者及び健康被験者の血漿（MK-5172-013試験）[2.7.2.2.3.1.3 項]を用いて、グラゾプレビルの血漿蛋白結合を評価した[資料4.2.2.3.3: G-PK020]。その結果、肝機能障害によるグラゾプレビルの血漿蛋白結合への影響がないことが示唆された[表 2.6.4.A-10]。

表 2.6.4.A-10 軽度、中等度及び重度肝機能障害者並びに健康被験者にグラゾプレビル 200 mg を 10 日間反復経口投与した際のグラゾプレビルの血漿蛋白非結合型分率 (in vitro)

肝機能障害の程度	血漿蛋白非結合型分率	
	肝機能障害者	健康被験者
軽度	0.017 ± 0.003	0.012 ± 0.002
中等度	0.021 ± 0.010	0.017 ± 0.002
重度	0.019 ± 0.003	0.017 ± 0.003
平均値 ± 標準偏差 (n=8) [2.6.5.A.11 項] [資料4.2.2.3.3: G-PK020]		

2.6.4.A.4.4 血球移行性

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

グラゾプレビルを全血（新鮮血）とインキュベートし、グラゾプレビルの血球への移行性を評価した。グラゾプレビルの血液／血漿中濃度比は、検討した薬物濃度範囲において濃度非依存的であった。また、血液／血漿中濃度比の平均値はラット、イヌ及びヒトで各々0.61、0.47及び0.67であった[2.6.5.A.12 項]。これらのデータから、これらの3動物種において血液クリアランスは血漿クリアランスより高いことが示唆された。

2.6.4.A.4.5 胎盤通過

[資料4.2.2.3.5: G-TT 7040] [資料4.2.2.3.4: G-TT 7420]

妊娠ラット及びウサギにグラゾプレビルを投与し、妊娠20日目の母動物及び胎児血漿中薬物濃度を測定することにより、グラゾプレビルの胎盤通過を評価した[2.6.5.A.13 項]。妊娠ラットには、妊娠6～20日目にグラゾプレビル200 mg/kg を1日2回経口投与し、妊娠ウサギには、妊娠7～20日目にグラゾプレビル100 mg/kg を1日1回静脈内投与した。ラットでは投与後2、8及び24時間、ウサギでは投与後0.5、2及び24時間に母動物及び胎児の血液を採取し、グラゾプレビルの血漿中濃度を測定した。胎児／母動物血漿中濃度比は、ラット及びウサギで各々0.0138～0.894及び0.0128～0.0706であった[表 2.6.4.A-11]。これらの結果から、グラゾプレビルはラット及びウサギの胎盤を通過するが、胎児の曝露量は母動物の曝露量より低いことが示唆された。

表 2.6.4.A-11 妊娠ラットにグラゾプレビル 200 mg/kg を 1 日 2 回経口投与並びに妊娠ウサギにグラゾプレビル 100 mg/kg/日を静脈内投与した際の母動物及び胎児における

グラゾプレビルの血漿中濃度

動物種	投与量 (mg/kg)	時間 (hr)	血漿中グラゾプレビル濃度 (μM) †		比 (胎児／母動物)
			母動物	胎児	
ラット ‡	200 1日2回経口投与	2	28.3 ± 8.14	0.388 ± 0.110	0.0138 ± 0.000587
		8	39.1 ± 5.96	1.04 ± 0.113	0.0285 ± 0.00478
		24	0.0707 ± 0.0275	0.0473 ± 0.0143	0.894 ± 0.278
ウサギ §	100 1日1回静脈内投与	0.5	30.6 ± 2.58	0.391 ± 0.0752	0.0128 ± 0.00244
		2	8.43 ± 0.674	0.339 ± 0.0350	0.0408 ± 0.00505
		24	0.458 ± 0.0226	0.0310 ± 0.0110	0.0706 ± 0.0283

†: 平均値 ± 標準誤差

‡: 各時点につき n=4 [資料4.2.2.3.5: G-TT 7040]

§: 各時点につき n=4 [資料4.2.2.3.4: G-TT 7420]

[2.6.5.A.13 項]

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるグラゾプレビルの推定代謝経路を[図 2.6.4.A-5]に示す。

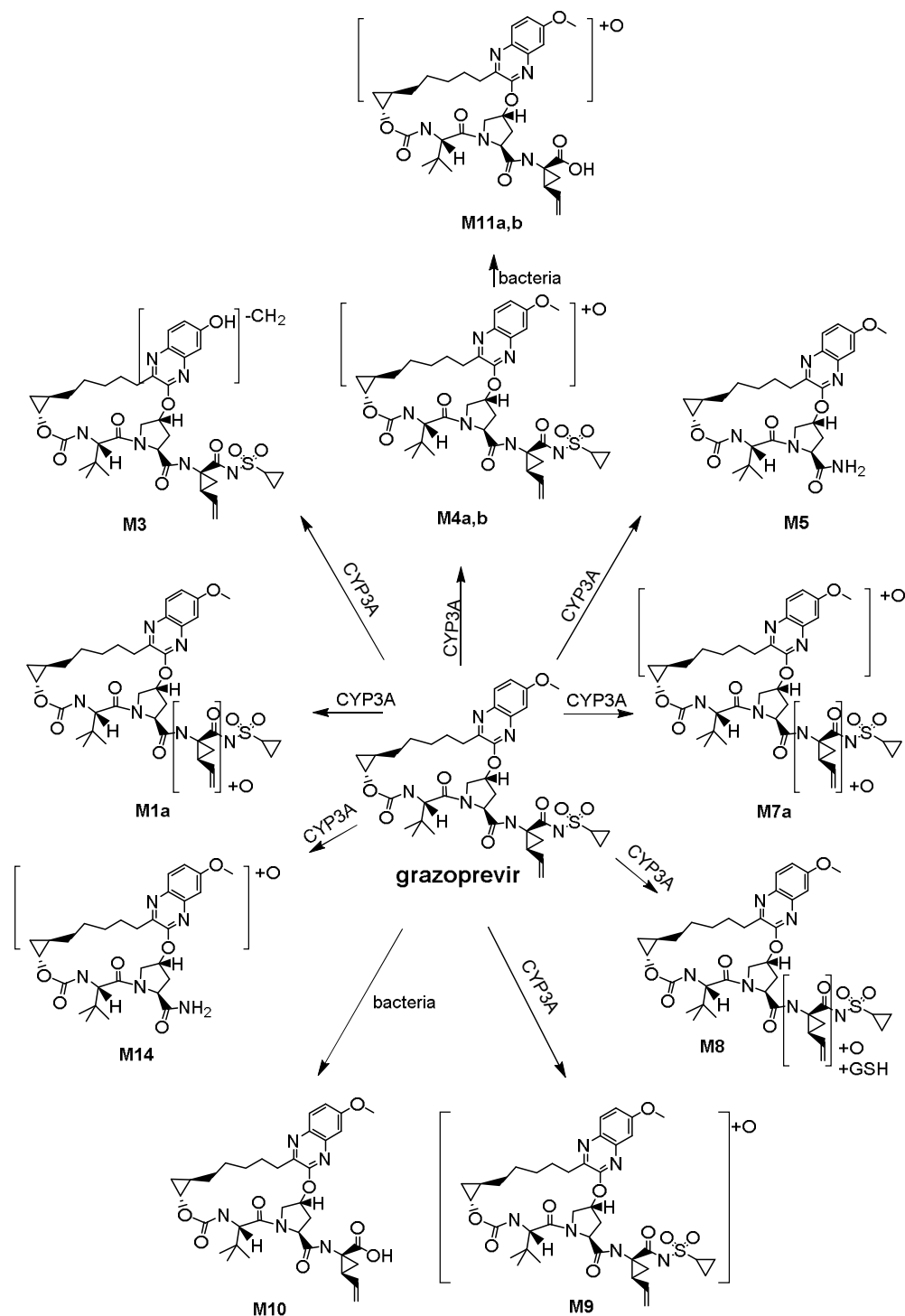


図 2.6.4.A-5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるグラゾプレビル[®]の推定代謝経路

[2.6.5.A.14 項] [2.6.5.A.15 項]

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.A.5.1 In vivo

2.6.4.A.5.1.1 ラット

[資料4.2.2.4.1: G-PK002]

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラットに $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル5 mg/kg を経口投与し、グラゾプレビルの in vivo での代謝を評価した[2.6.5.A.14 項] [2.6.5.A.17 項]。グラゾプレビル及びその代謝物を合わせた排泄率（投与量に対する割合）は、尿、胆汁及び糞中で各々 $0.4 \pm 0.3\%$ 、 $28.1 \pm 2.2\%$ 、及び $72.8 \pm 4.0\%$ であった[2.6.5.A.17 項]。糞中放射能は、主に未変化体であった（総投与量の59%）[2.6.5.A.14 項]。胆汁からは、酸化代謝物（16%）に続き同程度の未変化体（12%）が回収された[2.6.5.A.14 項]。ラットの胆汁及び糞中に、酸化代謝物（M1a、M3、M4a、M4b、M5、M7a 及び M9）並びに酸化代謝物のグルタチオン抱合体（M8、投与量の約1%）が認められた[図 2.6.4.A-5] [2.6.5.A.14 項]。

無処置の雄性 Wistar Han ラットに $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル20 mg/kg を経口投与したとき、血漿中の検出可能な放射能は未変化体のみであった[図 2.6.4.A-6] [2.6.5.A.14 項]。

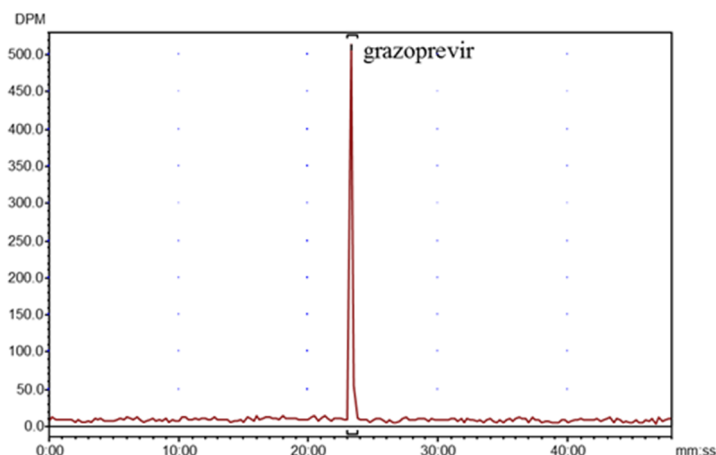


図 2.6.4.A-6 無処置ラットに $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル 20 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物（投与後 6 時間）の代表的なラジオクロマトグラム

[2.6.5.A.14 項] [資料4.2.2.4.1: G-PK002]

2.6.4.A.5.1.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.2: G-PK004]

雌性 Dutch-Belted ウサギに $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル200 mg/kg を経口投与し、in vivo での代謝を評価した。グラゾプレビル及びその代謝物をあわせた投与後72時間までの排泄率（投与量に対する割合）は、尿及び糞中で各々 $1.4 \pm 2.3\%$ 及び $77.3 \pm 14.3\%$ であった[2.6.5.A.17 項]。尿中の放射能排泄率が低かったため、代謝物の分析は行わなかった。糞中の放射能は主に未変化体であり（総投与量の $60.2 \pm 20.3\%$ ）、数種の酸化代謝物（M1a、M3、M4a、M4b、M5、M7a 及び M9）[図 2.6.4.A-5]がわずかに認められた[2.6.5.A.14 項]。また、血漿中の放射能は主に未変化体であり、酸化代謝物（M3、M4a、M4b 及び M7a）がわずかに認められた[2.6.5.A.14 項]。

2.6.4.A.5.1.3 イヌ

[資料4.2.2.4.4: G-PK018]

胆管カニューレ処置したイヌ (n=3) に ^{14}C グラゾプレビル0.5 mg/kg を静脈内投与、又は1 mg/kg を経口投与し、その代謝を評価した。静脈内投与後、投与量の大部分の放射能は胆汁中に排泄された[2.6.5.A.17 項]。投与後48時間までプールした胆汁中に排泄された放射能は（3例中2例；残る1例は放射能が低かったため検討から除外）、未変化体（投与量の37%）及び酸化代謝物（M3、M4a、M4b 及び M7a：総計は投与量の46%）であった[図 2.6.4.A-5] [2.6.5.A.14 項]。尿及び糞中の放射能濃度は非常に低く、代謝プロファイリングには使用できなかった。イヌの血漿中からは未変化体のみが検出された[図 2.6.4.A-7] [2.6.5.A.14 項]。

経口投与後、放射能は尿（投与量の3.4%）、胆汁（投与量の27.8%）及び糞中（投与量の26.4%）に排泄された[2.6.5.A.17 項]。胆汁中に排泄された放射能は、静脈内投与時と同様、未変化体及び酸化代謝物（M3、M4a、M4b 及び M7）であり、その存在比もほぼ同様であった[2.6.5.A.14 項]。経口投与後の糞中の放射能は未変化体及び代謝物 M10であった[2.6.5.A.14 項] [図 2.6.4.A-5]。代謝物 M10は、イヌの胆汁、又は還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）を含む肝ミクロソームとのインキュベーションでは検出されなかったことから[2.6.5.A.15 項]、腸内細菌による代謝によって生成された可能性がある[資料4.3: 17]。次項[2.6.4.A.5.1.4 項]に示すように、代謝物 M10は、グラゾプレビル及びヒト糞ホモジネートをインキュベートした際に生成された。

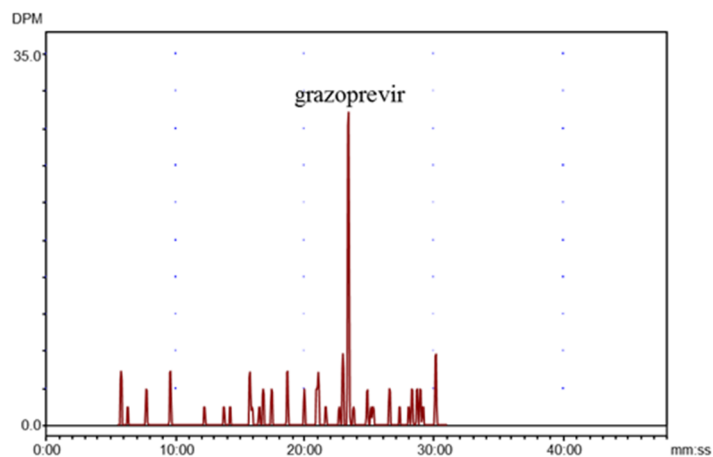


図 2.6.4.A-7 胆管カニューレ処置イヌに ^{14}C グラゾプレビル 0.5 mg/kg を静脈内投与した際に得られた血漿抽出物（投与後 1 時間）の代表的なラジオクロマトグラム

[2.6.5.A.14 項] [資料4.2.2.4.4: G-PK018]

2.6.4.A.5.1.4 ヒト

[資料4.2.2.5.1: G-PK016] [資料4.2.2.4.2: G-PK009]

健康成人男性（ $n=6$ ）を対象に $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビル186～188 mg（平均196 μCi ）を経口投与した際の代謝を評価した（MK-5172-007試験）[2.7.2.2.1.3.1 項] [2.6.5.A.14 項]。投与後576時間まで（24日間）、様々な間隔で血漿、尿及び糞を採取した。投与した放射能は、投与後168時間（7日）までにほぼすべてが糞中に排泄された。また、尿中に排泄された放射能は、投与量の1%未満であった。糞中に排泄された放射能は、主に未変化体（及び腸内細菌による生成物 M10）が投与量の80%を、続いて酸化代謝物が投与量の22%を占めていた[2.6.5.A.14 項]。糞中で同定された酸化代謝物は M4a、M4b、M7a 及び M14であった[2.6.5.A.14 項] [図 2.6.4.A-5]。代謝物 M4a 及び M4b は水酸化、M7a はに二水酸化、及び M14 はビニルシクロプロピルスルホンアミド基の酸化的脱離、及び水酸化により生成される[図 2.6.4.A-5]。さらにヒト糞中では2つの代謝物 M11a 及び M11b も確認され、各々 M4a 及び M4b の腸内細菌由来生成物と考えられた[2.6.5.A.14 項] [図 2.6.4.A-5]。また、M10はヒト糞中からも検出され、グラゾプレビルの腸内細菌による生成物と考えられた[図 2.6.4.A-5]。これらの水酸化物は腸内細菌の代謝による生成物であることが知られており[資料4.3: 17]、ヒト血漿中には検出されなかったことから、吸収されずに消化管で生成され排泄されると考えられる。M10、M11a 及び M11b はすべて、M4a、M4b 及び未変化体を含む試料をヒト糞ホモジネートとインキュベートした際には生成されたが、対照緩衝液中では生成されなかった[2.6.5.A.15 項]。ヒト糞中でみられた酸化代謝物 M4a、M4b 及び M7a は、毒性試験で使用した動物種であるラット及びイヌの胆汁でも観察されている[表 2.6.4.A-12]。ヒト糞中のみにわずかにみられた酸化代謝物 M14（投与量の4%）は、ラット及びウサギの *in vivo*、並びにラット、ウサギ、イヌ及びヒトの *in vitro* で生成された代謝物 M5（M14の水酸化なし）と構造的に類似している[図 2.6.4.A-5]。

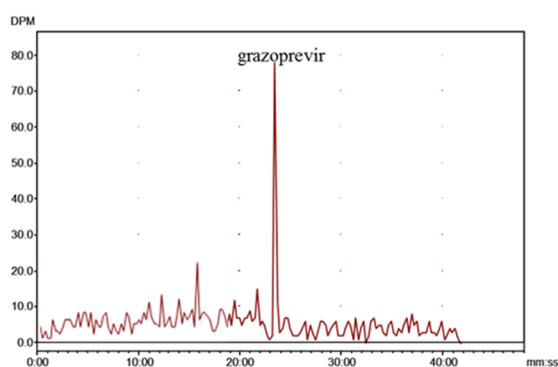
ヒト血漿からは、未変化体が検出された。 $T_{\max}$ （3時間）付近、及び代謝プロファイリングのために十分量の放射能が検出された時点（8時間）のプール血漿のクロマトグラムを、[図 2.6.4.A-8] に示す。また、健康成人男性（ $n=6$ ）を対象にグラゾプレビル1000 mg を1日1回10日間反復経口投与したとき（MK-5172-001試験、パネル H）[2.7.2.2.1.1.1 項]のプール血漿についても高分解能質量分析法（HRMS）を用いて代謝プロファイリングを実施したが、未変化体のみが検出された[2.6.5.A.14 項]。

表 2.6.4.A-12 試験動物種及びヒトの排泄物中から検出されたグラゾプレビル及びその代謝物
(放射能検出器付き HPLC)

動物種	ラット		ウサギ		イヌ		ヒト	
投与量	5 mg/kg、経口		200 mg/kg、経口		0.5 mg/kg、静脈内 及び1 mg/kg、経口		186～188 mg、経口	
生体試料	胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞
未変化体	+	+	NS	+	+	+	NS	+
M1a	+	-	NS	+	-	-	NS	-
M3	+	+	NS	+	+	-	NS	-
M4a	+	+	NS	+	+	-	NS	+
M4b	+	+	NS	+	+	-	NS	+
M5	+	+	NS	+	-	-	NS	-
M7a	+	-	NS	+	+	-	NS	+
M8	+	-	NS	-	-	-	NS	-
M9	+	-	NS	+	-	-	NS	-
M10	-	-	NS	-	-	+	NS	+
M11a/b	-	-	NS	-	-	-	NS	+
M14	-	-	NS	-	-	-	NS	+

+: 検出あり、-: 検出なし、NS: 試料を採取せず
試験したすべての動物種で尿中の放射能排泄率が投与量の4%未満であったことから[2.6.5.A.17 項]、尿中代謝物についてはプロファイリングできなかった。また、ラット、イヌ及びヒト血漿中に代謝物は検出されなかった。ウサギ血漿中には微量の酸化代謝物のみが検出された。
[2.6.5.A.14 項] [資料4.2.2.4.1: G-PK002] [資料4.2.2.2: G-PK004] [資料4.2.2.4.4: G-PK018] [資料4.2.2.4.2: G-PK009] [資料4.2.2.5.1: G-PK016]

a) 投与後3時間



b) 投与後8時間

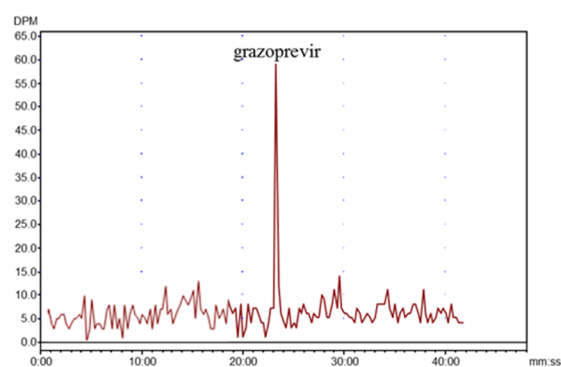


図 2.6.4.A-8 ヒトに $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビル 186～188 mg/kg を経口投与した際
(投与後 3 及び 8 時間) に得られた血漿抽出物の代表的なラジオクロマトグラム

[2.6.5.A.14 項] [資料4.2.2.4.2: G-PK009]

2.6.4.A.5.2 In vitro

[資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.2.2: G-PK004] [資料4.2.2.4.2: G-PK009] [資料4.2.2.4.5: G-PK026]

ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞、並びにマウスの肝ミクロソームを用いて、グラゾプレビルの in vitro 代謝を評価した[2.6.5.A.15 項]。いずれの動物種においても、グラゾプレビルの代謝の程度は低かった。いずれの動物種でも代謝物プロファイルは定性的に類似していた[2.6.5.A.15 項]。ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝インキュベーション溶液中には8種類の代謝物が認められた。それらの代謝物は、水酸化 (M1a、M4a、M4b、M7a 及び M9)、酸化的 O-脱アルキル化 (M3)、ビニルシクロプロピルスルホンアミド基の酸化的脱離 (M5) 並びに酸化及びグルタチオン抱合 (M8) により生成された[2.6.5.A.15 項] [図 2.6.4.A-5]。In vitro で生成された代謝物は、in vivo で産生される代謝物を予測し得るものであった。ただし、腸内細菌により生成されたと考えられる代謝物 M11a、M11b 及び M10は、肝細胞とのインキュベーション溶液中では認められなかった[2.6.5.A.15 項]。マウス肝ミクロソームでは微量の代謝物 M3、M4a、M4b 及び M10がみられた[2.6.5.A.15 項]。マウス肝ミクロソーム中で M10がみられた理由は不明である。ヒト肝調製物にみられた代謝物は、ラット、ウサギ及びイヌ肝調製物でも観察された[2.6.5.A.15 項]。

ヒト及びラット肝ミクロソーム、並びにヒト肝細胞を還元グルタチオン又はリトナビルの存在下及び非存在下でインキュベートし、 $[^3\text{H}]$ 又は $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビルが、共有結合の蛋白修飾を起こし得る化学反応性代謝物を生成する可能性について検討した[2.6.5.A.16 項]。その結果、グラゾプレビルはラット及びヒトの試験系において NADPH 依存的な代謝を受け、化学反応性のある中間体を生成することが示された[表 2.6.4.A-13]。内因性求核ペプチドである還元グルタチオンを添加してインキュベートした場合、蛋白共有結合率が低下した。同様にヒト肝細胞とのインキュベーションでは、ヒト肝ミクロソームと比較して共有蛋白結合率が低かった。さらに、リトナビルの存在下でも NADPH 依存的に結合する共有蛋白結合率が低下したことから、CYP450が反応性代謝物の生成に重要であることが示唆された。反応性代謝物の生成を示唆する代謝物がヒト排泄物中に検出されなかったことから[2.6.5.A.14 項]、ヒトにおいて反応性代謝物を生成する代謝経路の寄与はわずかであることが示唆された。

表 2.6.4.A-13 グラゾプレビルの共有蛋白結合 (in vitro)

条件	NADPH	5 mM GSH	リトナビル	10 μM $[^3\text{H}]$ グラゾプレビル (pmol equiv./mg protein)	10 μM $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビル (pmol equiv./mg protein)
ラット肝ミクロソーム	-	-	-	4.3 $\pm$ 0.2	NA
ラット肝ミクロソーム	+	-	-	96.8 $\pm$ 1.4	NA
ラット肝ミクロソーム	+	+	-	41 $\pm$ 3	NA
ヒト肝ミクロソーム	-	-	-	2.1 $\pm$ 0.3	48 $\pm$ 4
ヒト肝ミクロソーム	+	-	-	354 $\pm$ 46	451 $\pm$ 48
ヒト肝ミクロソーム	+	+	-	202 $\pm$ 11	NA
ヒト肝ミクロソーム	+	-	+	NA	53 $\pm$ 13
ヒト肝細胞、0 hr	-	-	-	NA	0 $\pm$ 0
ヒト肝細胞、4 hr	-	-	-	NA	53 $\pm$ 2
GSH : 還元型グルタチオン、- : 非含有、+ : 含有、NA : 該当せず 平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3) [2.6.5.A.16 項] [資料4.2.2.4.3: G-PK012]					

2.6.4.A.6 排泄

2.6.4.A.6.1 ラット

[資料4.2.2.4 1: G-PK002]

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラットに^{[3]H}グラゾプレビル5 mg/kgを経口投与したとき、放射能はすべて排泄された（投与量の101.3%）[2.6.5.A.17 項]。投与した放射能は投与後72時間までに主に糞中（投与量の72.8%）に、続いて胆汁（投与量の28.1%）及び尿中（投与量の0.4%）に排泄された[表 2.6.4.A-14]。ラットの胆汁中にはグラゾプレビルとその酸化代謝物がほぼ同程度認められたことから、ラットにおけるグラゾプレビルの消失には、酸化的代謝と未変化体の胆汁排泄が重要であることが示唆された[2.6.5.A.14 項]。糞中に排泄された未変化体は、吸収されなかった薬物又は腸管から分泌された薬物のいずれかと考えられる[2.6.5.A.14 項]。

2.6.4.A.6.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.2: G-PK004]

無処置の雌性 Dutch-Belted ウサギに^{[3]H}グラゾプレビル200 mg/kgを経口投与し、その排泄経路を調べた[2.6.5.A.17 項]。尿及び糞を投与後72時間まで採取したとき、放射能の回収率は投与量の78.7%であり、そのうちの大部分が糞中（投与量の77.3%）に排泄された[表 2.6.4.A-14]。したがって、ウサギにおけるグラゾプレビルの主な排泄経路は、胆汁排泄であった。

2.6.4.A.6.3 イヌ

[資料4.2.2.4.4: G-PK018]

胆管カニューレ処置した雄性ビーグル犬に^{[14]C}グラゾプレビルを静脈内及び経口投与し、投与後72時間まで尿、胆汁及び糞を採取してグラゾプレビルの排泄を調べた[2.6.5.A.17 項]。静脈内投与後、放射能はほぼすべて回収された（投与量の97%）。そのうちの大部分は胆汁中（投与量の74.3%）及び糞中（投与量の22.0%）に排泄され、尿中（投与量の0.5%）に排泄された放射能は微量であった[表 2.6.4.A-14]。他の動物種と同様に、放射能の大部分は未変化体及び酸化代謝物として胆汁を介して排泄された[2.6.4.A.5.1.3 項]。これらのデータから、イヌにおけるグラゾプレビルの消失には、酸化的代謝と未変化体の排泄が重要であることが示唆された。静脈内投与後に放射能が糞中に排泄されたことから、イヌにおける薬物由来放射能の排泄には、腸管からの分泌も寄与することが示唆された。経口投与したとき、放射能は、尿（投与量の3.4%）、胆汁（投与量の27.8%）及び糞中（投与量の26.3%）に排泄され、総回収率は57.5%であった[表 2.6.4.A-14]。胆管カニューレ処置のため放射能の回収が不完全だったと考えられる。糞中に排泄された放射能は、吸収されなかった薬物又は腸管からの分泌によるものと考えられる。

2.6.4.A.6.4 ヒト

[資料4.2.2.5.1: G-PK016]

健康成人男性 (n=6) に $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビル186～188 mg (平均196 μCi) を単回経口投与したとき、投与後24日間で平均して投与量の110%が糞中に、0.3%が尿中に排泄された[2.6.5.A.17 項] [表 2.6.4.A-14]。投与量の大部分 (102%) は投与後最初の7日間に糞中に排泄された[2.6.5.A.17 項]。したがって、ヒトにおける薬物由来物質の主な排泄経路は、非臨床試験動物種と同様に糞中排泄であった。

生理学的薬物動態 (PBPK) モデルで推定されたヒトにおけるグラゾプレビルの吸収率は約50%と推定された[2.7.2.3.1.2.1 項]。仮に、グラゾプレビルの約50%が吸収され、投与量の22%が酸化代謝物として消失する場合、ヒトにおけるグラゾプレビルの消失には酸化的代謝及び未変化体の排泄がほぼ同程度で寄与していると考えられる。

表 2.6.4.A-14 ラット、ウサギ、イヌ及びヒトに $[^3\text{H}]$ 又は $[^{14}\text{C}]$ グラゾプレビルを単回静脈内又は経口投与した際の放射能の累積排泄率

投与量 (mg/kg)	投与経路 (例数)	投与量に対する割合 (%)			
		尿	胆汁	糞	合計
ラット (0-72 hr)					
5	経口 (n=3)	0.4 ± 0.3	28.1 ± 2.2	72.8 ± 4.0	101.3 ± 5.3
ウサギ (0-72hr)					
200	経口 (n=3)	1.4 ± 2.3	NC	77.3 ± 14.3	78.7 ± 12.1
イヌ (0-72hr)					
0.5	静脈内 (n=3)	0.5 ± 0.3 [†]	74.3 ± 20.8	22.0 ± 24.5	97 ± 5
1	経口 (n=3)	3.4 ± 2.8	27.8 ± 9.0	26.3 ± 10.7	57.5 ± 9.5
ヒト (0-576 hr)					
186 – 188 [‡]	経口 (n=6)	0.29 ± 0.07	NC	110 ± 16	110 ± 16
平均値±標準偏差 NC：採取せず [†] ：ケージ洗浄液を含む [‡] ：mg [2.6.5.A.17 項] [資料4.2.2.4.1: G-PK002] [資料4.2.2.2.2: G-PK004] [資料4.2.2.4.4: G-PK018] [資料4.2.2.5.1: G-PK016]					

2.6.4.A.6.5 乳汁排泄 (ラット)

[資料4.2.2.3.5: G-TI 7040]

授乳ラットの乳汁中へのグラゾプレビルの排泄について検討した。妊娠6日から授乳14日までグラゾプレビルを25 mg/kg/日、100 mg/kg/日、又は200 mg/kg 1日2回で各々投与し、授乳14日の投与後2及び8時間に母動物の血漿及び乳汁中の薬物濃度を測定した[2.6.5.A.18 項]。乳汁／母動物血漿濃度比は0.538 $\pm$ 0.0941～0.866 $\pm$ 0.127 [平均値 $\pm$ 標準誤差、n=3又は5] であり、授乳ラットの乳汁中にグラゾプレビルが排泄された[2.6.5.A.18 項]。

2.6.4.A.7 薬物動態学的薬物間相互作用

2.6.4.A.7.1 グラゾプレビルの消失に関与する薬物代謝酵素及びトランスポーター

[資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.6.2: G-PK006] [資料4.2.2.6.6: G-PK011]

[資料4.2.2.6.12: G-PK023] [資料4.2.2.6.15: G-PK027]

グラゾプレビルは、*in vitro* において CYP3A、P-gp、OATP1B1及び OATP1B3の基質である。

ヒト肝ミクロソーム、CYP3A、CYP2D6及び CYP2C に対するモノクローナル抗体、並びに各種遺伝子組換え型 CYP 分子種を用いて、グラゾプレビルの酸化的代謝の主要な薬物代謝酵素を評価した[2.6.5.A.19 項]。モノクローナル抗体存在下のヒト肝ミクロソームでの検討では、抗 CYP3A 抗体はグラゾプレビルの酸化代謝物の生成をほとんど阻害したが、抗 CYP2D6抗体及び抗 CYP2C 抗体に阻害作用は認められなかった[2.6.5.A.19 項]。各種遺伝子組換え型 CYP 分子種 (CYP3A、CYP2D6、CYP1A2、CYP2C9又は CYP2C19) 存在下のヒト肝ミクロソームでの検討では、CYP3A4 及び CYP2D6を添加した場合のみ測定可能なグラゾプレビルの代謝物の生成がみられた[2.6.5.A.19 項]。CYP3A4は、ヒト肝ミクロソームとのインキュベーションでみられたすべての酸化代謝物 (M1a、M3、M4a、M4b 及び M7) を生成し、CYP2D6は微量の M3を生成した[2.6.5.A.19 項]。rCYP 及びヒトの代謝データ[表 2.6.4.A-12]において、rCYP2D6の代謝物である M3ではなく rCYP3A4の代謝物である M4a、M4b 及び M7a がヒト排泄物中から検出されたことから、グラゾプレビルの *in vivo* での酸化的代謝は主に CYP3A を介すると考えられた。

グラゾプレビルの酸化代謝物 M4a 及び M4b の生成速度を、遺伝子組換え型 CYP3A4を用いて検討した[2.6.5.A.20 項]。M4a 及び M4b の生成は Michaelis-Menten 式で表され、 K_m 値は各々 3.23 ± 0.33 及び $3.50 \pm 0.28 \mu\text{M}$ 、 $V_{\max}$ 値は各々 0.21 ± 0.01 及び $0.18 \pm 0.00 \text{ pmol/min/pmol P450}$ であった[2.6.5.A.20 項]。

ラット及びヒト肝細胞へのグラゾプレビルの取り込み、*in vitro* 受動的膜透過性、並びにグラゾプレビルが OATP1B、P-gp 及び BCRP の基質となる可能性を、*in vitro* 試験で検討した[2.6.5.A.23 項]。ラット及びヒト肝細胞へのグラゾプレビルの取り込みに時間及び温度依存性が認められたことから、トランスポーターの関与が示唆された[2.6.5.A.21 項]。OATP1B1及び OATP1B3を遺伝子導入したイヌ腎臓由来 MDCKII (Madin-Darby canine kidney cell) 細胞及びヒト胎児腎臓由来 HEK293細胞、並びに MDCII 細胞のラット Oatp1b2安定発現株を用いた試験から、グラゾプレビルはヒト OATP1B1及び OATP1B3、並びにラット Oatp1b2の基質であることが示された[2.6.5.A.22 項] [2.6.5.A.23 項] [2.6.5.A.24 項]。OATP1B1及び OATP1B3を介したグラゾプレビルの取り込み速度は、遺伝子導入により一過性に各トランスポーターを高発現させた HEK293細胞を用いて検討した。OATP1B1及び OATP1B3の K_m 値は、各々 0.43 ± 0.11 及び $0.18 \pm 0.07 \mu\text{M}$ 、 $V_{\max}$ 値は 14.3 ± 1.4 及び $11.5 \pm 1.2 \text{ pmol}/10^6 \text{ cells/min}$ であった[2.6.5.A.24 項]。 K_m 値が低いことから、ヒト肝細胞への取り込みの飽和が示唆された。ブタ腎臓近位尿細管由来の上皮細胞：LLC-PK1細胞を用いてグラゾプレビルの受動的膜透過性を検討したとき、見かけの透過係数は $19 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ であった[2.6.5.A.23 項]。LLC-PK1細胞のヒト又はラット P-gp の安定発現株において、グラゾプレビルは

明らかな膜透過性を示し、Flux Ratio (B-A/A-B 比) が各々約100及び約30であったため、グラゾプレビルはヒト及びラット P-gp の基質であることが確認された[2.6.5.A.22 項] [2.6.5.A.23 項]。なお、MDCKII 細胞の BCRP 発現株を用いた検討では、宿主細胞である MDCKII 細胞に内因性輸送がみられたため、グラゾプレビルが BCRP の基質か否かを判断することはできなかった[2.6.5.A.23 項]。

2.6.4.A.7.2 薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する阻害

[資料4.2.2.6.7: G-PK013] [資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.6.5: G-PK010]

[資料4.2.2.6.3: G-PK007] [資料4.2.2.6.4: G-PK008] [資料4.2.2.6.9: G-PK017]

[資料4.2.2.6.13: G-PK024][資料4.2.2.6.14: G-PK025] [資料4.2.2.6.29: G-PK030]

主要な CYP、UGT1A1、カルボキシエステラーゼ1 (CES1)、カルボキシエステラーゼ2 (CES2) 及びカテプシン A (CatA) 並びにトランスポーターに対するグラゾプレビルの in vitro での阻害について[表 2.6.4.A-15]にまとめた。

グラゾプレビルが、一般的な7種類の CYP 分子種又は UGT1A1 に対して、プレインキュベーションに非依存的な阻害作用を示すかどうかを、ヒト肝ミクロソーム及びプローブ基質を用いて評価した[表 2.6.4.A-15]。In vitro での IC₅₀値、HCV 患者に予定臨床用量100 mg を投与したときの C_{max} の平均値 (0.617 µM) 及び高い血漿蛋白結合率 (非結合率=0.012) に基づくと、グラゾプレビルは、CYP3A を除いて、試験したすべての酵素に対する阻害能をまったくあるいはほとんど持たないと考えられる。グラゾプレビル100 mg を経口投与した HCV 患者における腸管内の理論上の最高濃度 ([I]_{gut}) は、溶解度を考慮しない場合522 µM であり、グラゾプレビルは腸管の CYP3A を阻害する可能性がある。ヒト肝ミクロソームにおいて、グラゾプレビルは CYP3A 及び CYP2C8 の時間依存的阻害薬ではなかった[2.6.5.A.26 項] [2.6.5.A.27 項]。

遺伝子組換え蛋白を用いてグラゾプレビルによる CES1、CES2及び CatA の阻害を評価した結果、IC₅₀値はいずれも>100 µM であった[表 2.6.4.A-15]。IC₅₀値が C_{max} (0.617 µM) に対して高く、CES1、CES2及び CatA はグラゾプレビルに対して親和性が低く活性の高い酵素であることから、グラゾプレビルはこれらの酵素を阻害しないと予測される[2.6.2.A.3.1.2 項]。

グラゾプレビルと併用される薬剤のクリアランス及び内因性分子の輸送に関与するトランスポーターに対するグラゾプレビルの阻害能について in vitro で評価し、[表 2.6.4.A-15]にまとめた。グラゾプレビルは、ヒト P-gp を発現した LLC-PK1細胞において P-gp 基質であるジゴキシンの輸送を阻害しなかったことから (IC₅₀ : >100 µM)、臨床において P-gp を阻害しないと予測された[2.6.5.A.29 項]。OATP1B1及び OATP1B3を過剰発現した MDCKII 細胞において、グラゾプレビルは、ピタバスタチン及びスルホブプロモフタレイン (各々 OATP1B1及び OATP1B3のプローブ基質) の取り込みを阻害し、IC₅₀値は各々0.7±0.1及び1.1±0.3 µM であった[2.6.5.A.29 項]。グラゾプレビルの臨床用量100 mg における、門脈血液中の理論上の最大非結合型薬物濃度を各種トランスポ

ーターの基質の IC_{50} 値と比較した結果から、OATP1B1／1B3基質との相互作用は生じないことが予測された。このとき R 値[†]は <1.25 であった。ヒト BCRP を含有する膜ベシクルを用いた検討で、グラゾプレビルがメトトレキサートの取り込みを阻害したことから ($IC_{50}=12.5 \pm 2.8 \mu M$) [2.6.5.A.29 項]、グラゾプレビルの BCRP に対する阻害作用は、腸管では多少あると考えられるが ($[I]_{gut}/IC_{50} > 10$)、全身性のものではないと考えられる ($C_{max,u}$ 又は非結合型薬物の $I_{in,max}/IC_{50} < 0.01$)。

[†] : R 値 $= 1 + (f_u \times I_{in,max}/IC_{50})$;

$I_{in,max}$ は門脈血液中での推定最大阻害薬濃度であり、 $C_{max} + (k_a \times \text{用量} \times F_a F_g / Q_h)$ として計算される。

C_{max} : 阻害薬の最高血漿中濃度、

用量 : 阻害薬の投与量

$F_a F_g$: 投与した阻害薬の消化管バイオアベイラビリティ (この場合1に等しい)

k_a : 阻害薬の吸収速度定数 (この場合 0.1 min^{-1})

Q_h : 推定肝血流速度 (この場合 97 L/hr)

[資料4.3: 18] [資料4.3: 19]

グラゾプレビルによる OAT1、OAT3及び OCT2の阻害を評価した結果、 IC_{50} 値は各々15、 >50 及び $>50 \mu M$ であった[2.6.5.A.29 項]。臨床用量100 mg を投与したときの非結合型薬物の C_{max} は約 $0.006 \mu M$ と非常に低いことから、グラゾプレビルは腎排泄に関わるこれらのトランスポーターを阻害しないと予測される。

膜ベシクルを用いた試験にて胆汁酸トランスポーター (BSEP)、多剤耐性関連蛋白2 (MRP2)、多剤耐性関連蛋白3 (MRP3) 及び多剤耐性関連蛋白4 (MRP4) に対するグラゾプレビルの阻害能を評価したとき、それらの IC_{50} 値は各々 0.15 ± 0.02 、 2.5 ± 0.5 、 3.8 ± 0.5 及び $1.0 \pm 0.1 \mu M$ であった[2.6.5.A.29 項]。BSEP、MRP2、MRP3及び MRP4は、内因性の胆汁酸の輸送に参与している。

ヒト肝細胞共培養系 (HepatoPacTM) を用いて、胆汁クリアランス ($CL_{biliary}$) へのグラゾプレビルの影響を評価するため、胆管側膜でのタウロコール酸の取り込み及び排出系に対するグラゾプレビルの阻害能を *in vitro* で検討した。また、胆汁排泄指数 (BEI) に対するグラゾプレビルの影響を評価するために、毛細胆管側に蓄積するタウロコール酸の変化を測定することで、グラゾプレビルの胆管側膜を介したタウロコール酸の排出に対する阻害能を検討した。グラゾプレビル添加後10分又は24時間の $CL_{biliary}$ 及び BEI を算出した。グラゾプレビルは *in vitro* でタウロコール酸 $1 \mu M$ の $CL_{biliary}$ を低下させ、見かけの IC_{50} 値は、添加後10分及び24時間で各々 5.1 ± 1 及び $2.6 \pm 0.8 \mu M$ であった[2.6.5.A.30 項]。また、グラゾプレビルは添加後10分でタウロコール酸 $1 \mu M$ の BEI を約44%低下させ、また、添加後24時間の IC_{50} 値は $5 \pm 1.1 \mu M$ であった[2.6.5.A.30 項]。これらの結果は、膜ベシクルを用いた試験系での BSEP のデータ及び *in vitro* での OATP1B1及び OATP1B3 阻害データと一貫していることから、グラゾプレビルは培養肝細胞を用いた試験系でタウロコール酸の取り込み及び排出を共に阻害することが示唆された。しかし、臨床推奨用量100 mg では、

門脈血液中の最高非結合型薬物濃度は理論上では約0.1 μM であり、また、非結合型薬物の C_{max} は最大で約0.006 μM であることから、グラゾプレビルは OATP1B、MRP2、MRP3又は MRP4の強い阻害薬ではないと考えられる。しかし、BSEP を阻害する可能性を除外することはできない。

In vitro での BSEP に対するグラゾプレビルの阻害作用を考慮して、MK-5172-003試験において、グラゾプレビルの4週間投与でトランスアミナーゼが上昇した被験者及び上昇しなかった被験者のサブセットから各々得られた血清試料を用いて、胆汁酸量の探索的な評価を実施した。血清中の総胆汁酸、ケノデオキシコール酸及びコール酸量の評価にはタンデム質量分析を用いた。総胆汁酸及びケノデオキシコール酸／コール酸比に、トランスアミナーゼが上昇した被験者及び上昇しなかった被験者の間で有意な差はみられなかった。MK-5172-003試験の被験者における胆汁酸量を評価した探索的試験では、4週間投与後にサブセットの被験者においてみられた遅延性のトランスアミナーゼ上昇に、BSEP の阻害が関与することを示唆する結果は得られなかった[2.7.2.1.2.1.2 項]。

表 2.6.4.A-15 グラゾプレビルの酵素及びトランスポーターに対する阻害能

酵素／トランスポーター	IC ₅₀ (μM)
CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6	>100
CYP3A	73 (ミダゾラム)、>100 (テストステロン)
CYP2B6	66
CYP2C8	6
UGT1A1	54
CES1	157
CES2	105
CatA	>200
P-gp	>100
OATP1B1	0.7 $\pm$ 0.1
OATP1B3	1.1 $\pm$ 0.3
BCRP	12.5 $\pm$ 2.8
BSEP	0.15 $\pm$ 0.02
MRP2	2.5 $\pm$ 0.5
MRP3	3.8 $\pm$ 0.5
MRP4	1.0 $\pm$ 0.1
OAT1	15 $\pm$ 2
OAT3	>50
OCT2	>50
[2.6.5.A.25 項] [2.6.5.A.28 項] [2.6.5.A.29 項] [2.6.2.A.3.1.2 項]	

2.6.4.A.7.3 CYP450の誘導

[資料4.2.2.6.1: G-PK003] [資料4.2.2.6.8: G-PK014]

異なるドナーから得られたヒト肝細胞 (n=3) を用いて、CYP3A4、CYP1A2及び CYP2B6に対するグラゾプレビルの *in vitro* での誘導能を調べた。グラゾプレビル (0.1～20 μ M) を肝細胞と48時間インキュベートし、酵素活性及び mRNA を測定した。グラゾプレビルは、*in vitro* で CYP3A4、CYP1A2及び CYP2B6を誘導しなかった [酵素活性及び mRNA の増加率は、各々の陽性対照 (リファンピシン10 μ M、オメプラゾール50 μ M、及びフェノバルビタール1000 μ M) の20%未満]。したがって、ヒトにおけるこれら CYP 分子種に対するグラゾプレビルの誘導能は低いと考えられる [2.6.5.A.31 項]。

2.6.4.A.7.4 アトルバスタチンに対するグラゾプレビルの薬物間相互作用

[資料4.2.2.6.10: G-PK019] [資料4.2.2.6.16: G-PK029]

アトルバスタチンは、OATP1B1、OATP1B3及び CYP3A、並びに関与の程度は低い CYP2C8 によって消失する。グラゾプレビルは、アトルバスタチンに対して臨床上有意味な相互作用を示した[2.7.2.3.4.2.3 項]。ピタバスタチンとの薬物間相互作用を評価する臨床試験成績から、グラゾプレビルは OATP1B1に対して臨床上有意味のある阻害薬ではないと考えられたが[2.7.2.3.4.1 項]、グラゾプレビルが基質依存的に OATP1B1又は OATP1B3を阻害する可能性を除外するため、プローブ基質としてピタバスタチン又はアトルバスタチンを用いた *in vitro* 阻害試験を実施した。ヒト肝細胞において、グラゾプレビルは、ピタバスタチン及びアトルバスタチンの取り込みをいずれも同程度の IC₅₀値で阻害し、その阻害の程度は基質濃度に非依存的であった[表 2.6.4.A-16]。肝細胞で得られたグラゾプレビルの IC₅₀値は、OATP1B1又は OATP1B3を過剰発現した MDCKII 細胞での IC₅₀値[表 2.6.4.A-15]、及び既知の OATP1B 阻害薬であるリファンピシン[表 2.6.4.A-16]でみられた IC₅₀値と同程度であった。グラゾプレビルとリファンピシンの R 値を比較した結果[表 2.6.4.A-16]、リファンピシンでは R 値が1.25を顕著に上回ったことから臨床上有意味な OATP1B1又は OATP1B3の阻害薬と予測されたのに対し、グラゾプレビルは R 値が1.25に近似又は未満であり、ピタバスタチン又はアトルバスタチンに対して臨床上有意味な阻害作用を示さないと予測された。グラゾプレビル (3 µM) 及びアトルバスタチン (3 µM) と、ヒト肝細胞をインキュベーションすると、(主に CYP3A、及び非常に寄与が小さい CYP2C8を介した) アトルバスタチンの酸化代謝物、並びにアトルバスタチンのその他の代謝物の生成がごくわずかに低下し、その程度はいずれの代謝物についても同程度であった[2.6.5.A.32 項] [2.6.5.A.33 項]。この結果から、アトルバスタチン (3 µM) を基質として用いたとき、グラゾプレビル3 µM は肝 OATP1B1/1B3、CYP3A 又は CYP2C8の強い阻害薬ではないことが示された。

表 2.6.4.A-16 ヒト肝細胞とのインキュベーションにおけるピタバスタチン及びアトルバスタチンの取り込みに対するグラゾプレビル及びリファンピシンの阻害作用

基質、濃度(µM)	阻害薬	IC ₅₀ (µM)	R 値 [†]
ピタバスタチン、0.1	グラゾプレビル	0.3 ± 0.0	1.3
ピタバスタチン、0.1	リファンピシン	0.9 ± 0.1	25
ピタバスタチン、1	グラゾプレビル	0.7 ± 0.1	1.1
ピタバスタチン、1	リファンピシン	1.6 ± 0.1	14
アトルバスタチン、0.1	グラゾプレビル	0.4 ± 0.1	1.2
アトルバスタチン、0.1	リファンピシン	0.3 ± 0.1	72
アトルバスタチン、1	グラゾプレビル	0.4 ± 0.1	1.2
アトルバスタチン、1	リファンピシン	0.8 ± 0.1	28

[†]: R 値 = $1 + (f_u \times I_{inlet,max} / IC_{50})$; $I_{in,max}$ は門脈血液中での推定最大阻害薬濃度であり、 $C_{max} + (k_a \times \text{用量} \times F_a F_g / Q_h)$ に等しい。 C_{max} : 阻害薬の最高血漿中濃度、用量: 阻害薬の投与量、 $F_a F_g$: 投与した阻害薬の消化管バイオアベイラビリティ (この場合1に等しい)、 k_a : 阻害薬の吸収速度定数 (この場合0.1 min⁻¹)、 Q_h : 推定肝血流速 (この場合97 L/hr) [資料4.3: 18] [資料4.3: 19]。
リファンピシンの R 値の算出には、用量: 600 mg、 C_{max} : 8 µM 及び非結合分画率: 0.4を用いた。

[2.6.5.A.32 項] [資料4.2.2.6.10: G-PK019]

2.6.4.A.7.5 グラゾプレビルに対する HIV プロテアーゼ阻害薬の薬物間相互作用

[資料4.2.2.6.11: G-PK022]

グラゾプレビルの薬物動態は CYP3A、OATP1B1 及び OATP1B3 阻害の影響を受けやすく、リトナビル、及びリトナビルによってブーストされる HIV プロテアーゼ阻害薬は、これらの消失経路を阻害する。臨床薬物間相互作用試験において、リトナビル、及びリトナビルによってブーストされる HIV プロテアーゼ阻害薬をグラゾプレビルと同時投与すると、グラゾプレビルの曝露量が約2～13倍に増加した[2.7.2.3.4.2.2 項][表 2.6.4.A-17]。

強力な CYP3A 及び P-gp 阻害薬であるリトナビル（100 mg、1日2回投与；MK-5172-006試験）及びケトコナゾール（400 mg、1日1回投与；MK-5172-001試験）によって、グラゾプレビルの曝露量が各々約2倍及び約3倍に増加したことから[2.7.2.2.4.1.2 項][2.7.2.2.1.1.1 項]、リトナビルによってブーストされる HIV プロテアーゼ阻害薬との相互作用は、CYP3A 阻害のみが原因ではないと考えられた。リファンピシンの単回経口投与による臨床薬物間相互作用試験（600 mg；MK-5172-031試験）において、グラゾプレビルの曝露量が8.35倍に増加したことから[2.7.2.2.4.1.6 項]、グラゾプレビルは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であることが確認された。これらの臨床で認められた薬物間相互作用の機序についてさらに理解するため、OATP1B1 又は OATP1B3 をトランスフェクションした HEK293細胞を用いて、グラゾプレビルをプローブ基質としたときの、リトナビル、ダルナビル、アタザナビル及びロピナビルを *in vitro* で評価した。また、算出した R 値の序列が臨床での相互作用の程度と相関するかどうかを判断するための解析を実施した。*In vitro* の阻害データ及び算出した R 値を[表 2.6.4.A-17]にまとめた。R 値が最小のリトナビルは、グラゾプレビルの曝露量を約2倍にしか変化させなかったが、R 値が最大のアタザナビル及びロピナビルは、グラゾプレビルの曝露量を最も顕著に増加させたことから、R 値の序列が臨床での相互作用の程度と同様の傾向であることが確認できた[表 2.6.4.A-17]。この傾向は、リトナビルによってブーストされる HIV プロテアーゼ阻害薬は、グラゾプレビルとの相互作用において、CYP3A 及び P-gp に加え、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害薬として作用するという仮定を支持するものであった。

表 2.6.4.A-17 臨床用量（200 mg）のグラゾプレビル及び HIV プロテアーゼ阻害薬の薬物間相互作用データに基づく HIV プロテアーゼ阻害薬の OATP1B1 及び OATP1B3 に対する

IC₅₀ 値及び R 値[†]

HIV プロテアーゼ阻害薬の臨床用量	リトナビル 100 mg、b.i.d.	ダルナビル 600 mg、b.i.d.; リトナビル 100 mg、b.i.d.	アタザナビル 300 mg、qd; リトナビル 100 mg、qd	ロピナビル 400 mg、b.i.d.; リトナビル 50 mg、b.i.d.
HIV プロテアーゼ阻害薬の C _{max} (μM)	1.23	16.0	7.2	19.6
f _u	0.01	0.07	0.14	0.02
分子量 (amu)	721.0	547.7	704.9	628.8
OATP1B1に対する IC ₅₀ (μM)	1.54 ± 0.24	16.5 ± 2.8	0.89 ± 0.10	0.30 ± 0.02
OATP1B1に対する R 値 [†]	1.1	1.4	6.3	4.9
OATP1B3に対する IC ₅₀ (μM)	1.17 ± 0.19	9.0 ± 2.3	4.42 ± 0.77	2.34 ± 0.33
OATP1B3に対する R 値 [†]	1.1	1.7	2.1	1.5
AUC の幾何平均比 (グラゾプレビル+ HIV プロテアーゼ 阻害薬／グラゾプレビル単独)	2.03	7.50	10.58	12.86
[†] : R 値 = 1 + (f _u × I _{inlet,max} / IC ₅₀) ; I _{in,max} は門脈血液中での推定最大阻害薬濃度であり、C _{max} + (k _a × 用量 × F _a F _g / Q _h) に等しい。C _{max} : 阻害薬の最高血漿中濃度、用量 : 阻害薬の投与量、F _a F _g : 投与した阻害薬の消化管バイオアベイラビリティ（この場合1に等しい）、k _a : 阻害薬の吸収速度定数（この場合0.1 min ⁻¹ ）、Q _h : 推定肝血流速度（この場合97 L/hr）[資料4.3: 18] [資料4.3: 19]。 b.i.d. : 1日2回投与 q.d. : 1日1回投与 OATP1B1及び OATP1B3の IC ₅₀ 値は、プローブ基質としてグラゾプレビルを用いて算出した[2.6.5.A.34 項]。 健康被験者にグラゾプレビル200 mgを1日1回投与した[2.7.2.2.4.1.2 項] [2.7.2.2.4.1.4 項]。				

2.6.4.A.8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.A.9 考察及び結論

非臨床試験動物種において、グラゾプレビル及びエルバスビルは、中程度のクリアランス、中程度の分布容積及び短い～中程度の血漿中半減期を示した。両化合物のFは小さい～中程度であり、吸収が高くないことに加え、肝初回通過効果による影響を受けたと考えられる。ラット及びイヌにおいて、グラゾプレビルの経口投与時の全身曝露量は投与量の増加と共に用量比以上に増加した。グラゾプレビルはイヌで腸管からの分泌が認められ、またP-gpの基質であることから、P-gpを介した腸管からの分泌の飽和が非線形の薬物動態を示す一因であると考えられる。グラゾプレビルはOATPの基質でもあり、ラット及びイヌの肝臓への取り込みがみられたが、エルバスビルではみられなかった。グラゾプレビルの血漿及び肝臓中薬物動態を評価する試験では、肝臓への取り込み過程の飽和が示唆された。そのため、肝取り込みの飽和は、ラット及びイヌにおけるグラゾプレビルの非線形の血漿中薬物動態に寄与していると考えられた。ラット及びイヌにおいて、エルバスビルの経口投与時の全身曝露量は投与量の増加と共に用量比を下回って増加した。これは、溶解度が低いことにより吸収が制限されたためと考えられる。

ラットの組織分布試験において、グラゾプレビルの分布は主に消化管及び肝臓に限定的かつ選択的であったが、エルバスビルはほとんどの組織に分布した。グラゾプレビル及びエルバスビルは共にP-gpの基質であるため、脳などのP-gp輸送の影響を受ける臓器への分布は限定的であった。グラゾプレビルの肝臓への選択的な分布は、OATPによって促進されたと考えられる。エルバスビルは、有色ラットでの検討においてメラニンに結合する可能性を示したが、光毒性試験では光毒性を有する化合物ではないことが示唆された。いずれの動物種においても、グラゾプレビル及びエルバスビルは血漿蛋白に結合し、主にヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白に結合した。腎機能障害者又は肝機能障害者において、両化合物の血漿蛋白結合に定量可能なレベルでは変化がみられなかった。グラゾプレビル及びエルバスビルとも血球に対して選択的に結合しなかった。グラゾプレビル及びエルバスビルは妊娠ラット及びウサギの胎盤を通過した。

グラゾプレビル及びエルバスビルの代謝は、試験動物種及びヒトで類似していた。グラゾプレビルは、CYP3Aによって酸化代謝物に代謝される。グラゾプレビル及びその酸化代謝物はさらに腸内細菌によって加水分解される。エルバスビルは、CYP3Aによって代謝され、2つの酸化代謝物が生成される。ラット、イヌ及びヒトにおいて、いずれの化合物も、経口投与後の循環血中から代謝物は検出されなかった。

試験動物種及びヒトにおいて、グラゾプレビルは、未変化体及び酸化代謝物として主に胆汁中に排泄され、一部は腸管から分泌し、尿中への排泄はわずかであった。ラット及びイヌにおいて、エルバスビルは、主に未変化体として胆汁排泄及び腸管からの分泌によって排泄され、酸化的代謝はわずかであった。グラゾプレビルと同様、試験動物種及びヒトでのエルバスビルの尿中排泄はわずかであった。ラット及びイヌから推定すると、エルバスビルはヒトにおいて未変化体として腸管からの分泌及び胆汁排泄を介してある程度が排泄されることが考えられる。また、ヒトでは、

酸化代謝もエルバスビルの消失に関与している。

In vitro において、グラゾプレビル及びエルバスビルは、CYP3A 及び P-gp の基質であることが確認された。グラゾプレビルは、in vitro において OATP1B1 及び OATP1B3 の基質でもあった。既知の CYP3A 及び P-gp の阻害薬であるケトコナゾール及び CYP3A 及び P-gp の誘導薬であるエファビレンツとの薬物間相互作用を評価する臨床試験成績から、グラゾプレビル及びエルバスビルが CYP3A 及び P-gp の基質であることが確認された。同様に、既知の OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬であるリファンピシンを用いたグラゾプレビルの単回経口投与及び静脈内投与試験から、グラゾプレビルが OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であることが裏付けられた[2.7.2.3.4.1 項]。

OATP1B1 及び OATP1B3 発現細胞を用いた検討では、非特異的結合によるバックグラウンドレベルが高かったためその結果が確定的ではないものの、in vitro においてエルバスビルが OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であるという結果は得られなかった。その一方で、単回経口及び静脈内投与によりリファンピシンを同時投与したとき、エルバスビルの薬物動態がわずかに変化した。そのため、エルバスビルの輸送に OATP1B1 及び OATP1B3 がわずかに関与する可能性を完全には除外することはできない。以上のことから、CYP3A 及び P-gp の阻害又は誘導薬、並びに OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬を併用する場合には、グラゾプレビル及びエルバスビルは薬物間相互作用の影響を受けやすいと考える。

In vitro 阻害試験から、グラゾプレビルは腸管 CYP3A 及び BCRP を阻害し、エルバスビルは腸管 P-gp 及び BCRP 並びに肝 OATP1B3 を阻害する可能性が示唆された。臨床試験から、グラゾプレビルは、ミダゾラムをプローブ基質として用いたとき CYP3A に対する弱い阻害作用を示し[2.7.2.3.4.1.2 項]、ロスバスタチンをプローブ基質として用いたとき BCRP に対する阻害作用を示すことが裏付けられた[2.7.2.3.4.2.3 項]。モンテルカスト（CYP2C8 の基質）との臨床薬物間相互作用試験では、グラゾプレビルが CYP2C8 を阻害しないことが確認された[2.7.2.3.4.1.2 項]。また、グラゾプレビルは、OATP1B1 の基質であるピタバスタチンの薬物動態を変化させなかったため[2.7.2.3.4.2.3 項]、OATP1B の阻害薬ではないと考えられた。ジゴキシシンとの臨床薬物間相互作用試験において、エルバスビルは腸管内濃度で P-gp を幾分阻害した[2.7.2.2.4.2.9 項]。エルバスビルはロスバスタチン（BCRP の基質）も阻害したが、グラゾプレビルの薬物動態には影響を及ぼさなかったため、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害薬ではないと考えられた[2.7.2.3.4.2.3 項][2.7.2.3.4.1 項]。したがって、グラゾプレビル及びエルバスビルの同時投与により、CYP3A、P-gp 及び BCRP に対して弱い阻害作用を示すことが示された。また、グラゾプレビル及びエルバスビルのいずれも、CYP3A4、CYP1A2 及び CYP2B6 の誘導薬ではないことが示された。

2.6.4.B 薬物動態試験の概要文（エルバスビル）

2.6.4.B.1 まとめ

[2.6.4.A.1 項]を参照。

2.6.4.B.2 分析法

[資料4.2.2.1.2: E-PK025]（参考資料）

エルバスビルの薬物動態（非 GLP 薬物動態試験[2.6.4 項]）を評価するため、血漿中及び肝臓中のエルバスビル濃度を測定した。血漿及び肝臓試料の前処理には蛋白沈殿法を、分析法には LC/MS/MS [イオン化法：Turbo Ion Spray、検出法：正イオンモード] を用いた。検討した動物種によらず、血漿中及び肝臓組織中での本薬の定量下限の範囲は各々1～11 nM 及び5 ng/mL であった。試料中及び HPLC の溶出液中の放射能を、LSC により測定した（HPLC 溶出液はインライン型の放射能検出器を用いた）。試料中の総放射能が微量の場合は、HPLC 溶出液をシンチレーションプレートに分取し、プレートを乾燥させ Microbeta カウンターを用いて測定した。代謝物プロファイルの検討には、放射能測定器付逆相 HPLC を使用した。代謝物の構造は質量分析法により決定した。

トキシコキネティクス試験[2.6.6 項]では、血漿中及び肝臓中エルバスビル濃度は、GLP を遵守しバリデートされた LC/MS/MS 法により測定した[表 2.6.4.B-1] [表 2.6.4.B-2]。

表 2.6.4.B-1 エルバスビルの測定法の真度及び精度（GLP に従った測定）

動物種／試料	真度(%)	精度(%)
イヌ／血漿	98.5～102	1.01～5.15
イヌ／肝ホモジネート	94.3～103	2.05～9.32
ラット／血漿	98.0～105	0.90～5.00
ラット／肝ホモジネート	93.1～106	0.77～4.25
マウス／血漿	98.8～102	0.77～5.42
マウス／肝ホモジネート	99.4～101	0.65～4.21
ウサギ／母動物血漿 (20.0～4000 ng/mL)	97.8～102	2.11 -5.91
ラット／母動物血漿 (20.0～4000 ng/mL)	98.5～103	0.92～5.84
ラット／乳汁	99～101	1～5
ウサギ／母動物血漿 (2.0～400 ng/mL)	96～106	3～8
ラット／母動物血漿 (2.0～400 ng/mL)	96～105	2～9
[資料4.2.2.1.2: E-PK025]（参考資料）		

表 2.6.4.B-2 各試験で用いたエルバスビルの測定法（GLP に従った測定）

試験番号	動物種／系統	LC/MS/MS 法	
[資料4.2.3.2.17: TT#-6013]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.1
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.2
[資料4.2.3.2.18: TT#-6025]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.1、SBP 415.3
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.2
[資料4.2.3.2.19: TT#-6030]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.3、SBP 415.4、SBP 415.5、 SBP 415.9
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.8
[資料4.2.3.7.7.2: TT#-6051]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.5、SBP 415.9
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.6、SBP 415.8
[資料4.2.3.7.7.6: TT#-1031]	イヌ／ビーグル	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	イヌ血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.9
[資料4.2.3.2.13: TT#-6014]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.1
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.2
[資料4.2.3.2.14: TT#-6017]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.1

表 2.6.4.B-2 各試験で用いたエルバスビルの測定法（GLP に従った測定）（続き）

試験番号	動物種／系統	LC/MS/MS 法	
[資料4.2.3.2.15: TT#-6024]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.3
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.2
[資料4.2.3.2.16: TT#-6033]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.5
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.8
[資料4.2.3.7.7.5: TT#-9042]	ラット／Long Evans (有色)	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.9
[資料4.2.3.5.2.15: TT#-7170]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.4
[資料4.2.2.3.10: E-TT7050]	ラット／Wistar Hanover	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット血漿（妊娠20日）及び胎児血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL、2～400 ng/mL SBP 415.9、SBP 415.11
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ラット乳汁（授乳14日） 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.10
[資料4.2.3.5.2.17: TT#-7180]	ウサギ／Dutch Belted	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ウサギ血漿（妊娠15日） 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.4
[資料4.2.2.3.11: E-TT7030]	ウサギ／Dutch Belted	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	ウサギ血漿（妊娠20日）及び胎児血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL、2～400 ng/mL SBP 415.9、SBP 415.11
[資料4.2.3.2.11: TT#-6047]	マウス／RasH2 Wild Type	試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス血漿 蛋白沈殿法 20～4000 ng/mL SBP 415.9
		試料： 試料の前処理： 定量範囲： バリデーション方法：	マウス肝ホモジネート 蛋白沈殿法 200～40000 ng/mL SBP 415.8
[資料4.2.2.1.2: E-PK025]（参考資料）			

2.6.4.B.3 吸収

2.6.4.B.3.1 ラット

[資料4.2.2.2.3: E-PK001] [資料4.2.3.2.15: TT#-6024]

雄性 Wistar Han ラットにエルバスビル5 mg/kg を静脈内投与したとき、血漿中エルバスビル濃度は経時的に低下した[図 2.6.4.B-1]。ノンコンパートメントモデル解析の結果、 CL_p 、 V_{dss} 及び $t_{1/2}$ の平均値は各々24 mL/min/kg、5.0 L/kg 及び4.2時間であった[表 2.6.4.B-3]。ラットの血液／血漿中濃度比である0.6[2.6.5.B.10 項]で CL_p を補正したとき、血液クリアランスが約40 mL/min/kg と推定され、ラットにおけるエルバスビルのクリアランスは中程度であった。

雄性 Wistar Han ラットにエルバスビル30 mg/kg を経口投与したとき、投与後約3時間で C_{max} (0.4 μ M) に到達した[表 2.6.4.B-3]。経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ (F) は9%であった[表 2.6.4.B-3]。胆汁中及び尿中放射能排泄率が静脈内投与後 (57.9%) に比べて経口投与後 (8.6%) で低いことから、吸収率が低い (0.1) ことが、ラットで F が低い原因と考えられた[2.6.5.B.14 項]。エルバスビル300 mg/kg を経口投与した際の薬物動態を検討したところ、曝露量の増加は用量比を下回ったが、これは、溶解度が低いことにより吸収が制限されたためと考えられる[表 2.6.4.B-3]。

反復経口投与時の曝露量についても検討した。ラットに300 mg/kg を単回投与したときの $AUC_{0-\infty}$ は7.8 μ M·hr[表 2.6.4.B-3]、及び反復投与したときの $AUC_{0-24 \text{ hr}}$ は11.5 $\pm$ 1.15 μ M·hr であったことから、幾分蓄積する可能性が示唆された[2.6.6.B.3.5 項] [表2.6.6.B-8]。雌雄ラットでの曝露量は同程度であった[2.6.6.B.3.5 項] [表2.6.6.B-8]。

表 2.6.4.B-3 雄性 Wistar Han ラットにエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの薬物動態パラメータ[†]

投与量 (mg/kg)	投与経路	$AUC_{0-\infty}$ (μ M·hr)	CL_p (mL/min/kg)	V_{dss} (L/kg)	$t_{1/2}$ (hr)	C_{max} (μ M)	T_{max} (hr)	F [‡] (%)
5	静脈内	4.3 (1.6)	24 (8)	5.0 (1.1)	4.2 (1.5)	-	-	-
30	経口	2.3 (1.0)	-	-	-	0.4 (0.3)	3.3 (1.2)	9 (4)
300	経口	7.8	-	-	-	0.6	5.0	3

[†]: 平均値 (標準偏差)、n=3。ただし、300 mg/kg 経口投与は n=2
[‡]: F は静脈内投与時の平均 $AUC_{0-\infty}$ 及び経口投与時の $AUC_{0-\infty}$ の個別値より算出した。
 [2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]

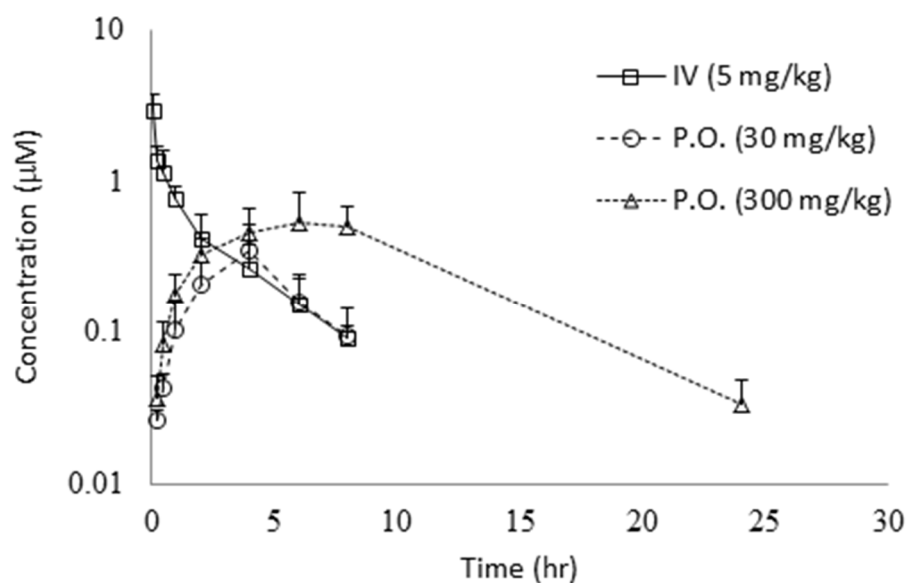


図 2.6.4.B-1 雄性 Wistar Han ラットにエルバスビルを静脈内及び経口投与した際のエルバスビルの血漿中薬物濃度推移

平均値±標準偏差

静脈内投与 (5 mg/kg) 及び経口投与 (30 mg/kg) : n=3、

経口投与 (300 mg/kg) : n=2

[2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]

2.6.4.B.3.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.4: E-PK005]

雌性 Dutch-Belted ウサギ (n=3) にエルバスビル100 mg/kg を経口投与した際の薬物動態を検討した。 C_{max} 、 T_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の平均値±標準偏差は、各々 $0.3 \pm 0.1 \mu\text{M}$ 、 1.3 ± 0.6 時間、及び $1.7 \pm 0.5 \mu\text{M} \cdot \text{hr}$ であった[2.6.5.B.3 項]。

2.6.4.B.3.3 イヌ

[資料4.2.2.2.3: E-PK001] [資料4.2.3.2.18: TT#XXXX-6025]

雄性ビーグル犬にエルバスビル1 mg を静脈内投与したとき、及び2 mg/kg を経口投与したときの血漿中濃度推移を[図 2.6.4.B-2]に示す。CL_p、V_{dss} 及び t_{1/2}の平均値は各々8.4 mL/min/kg、3.0 L/kg 及び7.7時間であった[表 2.6.4.B-4]。血液クリアランスは9 mL/min/kg と推定され、イヌの血液／血漿中濃度比である0.9 [2.6.5.B.10 項]を考慮すると、イヌにおけるクリアランスは中程度であった。

雄性ビーグル犬にエルバスビル2 mg/kg を経口投与したときのFは、35%であった[表 2.6.4.B-4]。肝初回通過効果はイヌ血液クリアランス9 mL/min/kg 及び肝血流量40 mL/min/kg に基づくと約0.2 と推定される。したがって、初回通過効果に加えて吸収が高くないため、F が低いと考えられる。ラットと同様に、イヌにおいても投与量の増加に伴う経口投与後の曝露量の増加は用量比を下回ったが、これは、溶解度が低いことにより吸収が制限されたためと考えられる[2.6.6.B.3.8 項][表 2.6.6.B-15]。

イヌにエルバスビル2、25、及び1000 mg/kg を反復経口投与した際の薬物動態を検討した。Day 1 から Week 5の AUC_{0-24 hr} 値を比較したところ、エルバスビルの蓄積や誘導はみられなかった[2.6.6.B.3.8 項][表2.6.6.B-16][表2.6.6.B-17]。反復投与試験において、イヌではエルバスビルの経口投与時の薬物動態に性差がないことが示唆された[2.6.6.B.3.8 項][表2.6.6.B-16][表2.6.6.B-17]。

表 2.6.4.B-4 雄性ビーグル犬にエルバスビルを静脈内及び経口投与した際の
エルバスビルの薬物動態パラメータ[†]

投与量 (mg/kg)	投与経路	AUC _{0-∞} (μM·hr)	CL _p (mL/min/kg)	V _{dss} (L/kg)	t _{1/2} (hr)	C _{max} (μM)	T _{max} (hr)	F [‡] (%)
1	静脈内	2.4 (0.8)	8.4 (2.3)	3.0 (0.8)	7.7 (2.3)	-----	-----	-----
2	経口	1.7 (0.3)	-----	-----	-----	0.29 (0.02)	3.3 (1.2)	35 (6)

[†]: 平均値 (標準偏差)、n=3
[‡]: F は静脈内投与時の平均 AUC_{0-∞}及び経口投与時の AUC_{0-∞}の個別値より算出した
[2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]

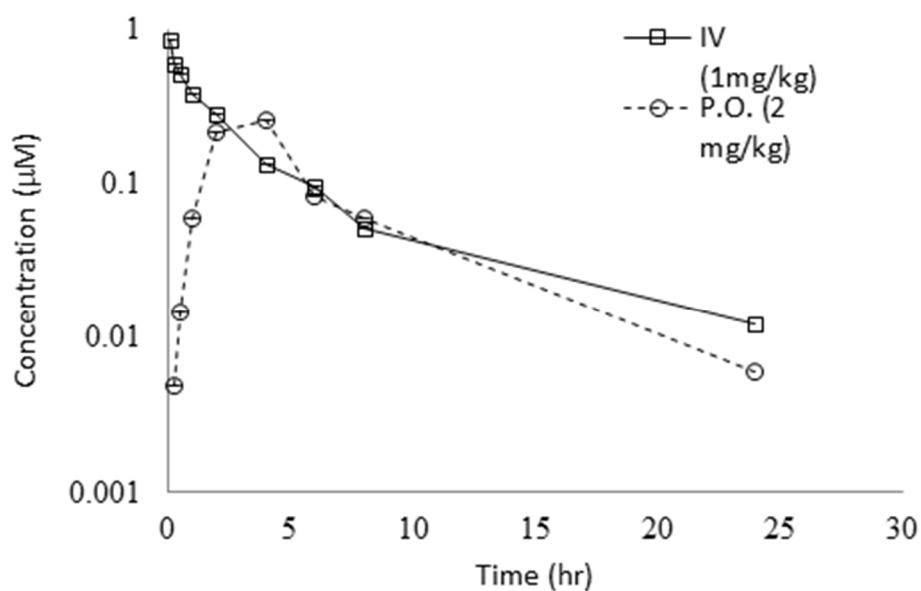


図 2.6.4.B-2 雄性ビーグル犬にエルバスビルを静脈内及び経口投与した際の
エルバスビルの血漿中薬物濃度推移

平均値±標準偏差 (n=3) [2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]

2.6.4.B.3.4 サル

[資料4.2.2.2.3: E-PK001]

雄性カニクイザルにエルバスビル1 mg/kg を静脈内投与した際の薬物動態を検討した。血漿中濃度推移を[図 2.6.4.B-3]に示す。CL_p、V_{dss}及びt_{1/2}の平均値は、各々5.2 mL/min/kg、2.7 L/kg 及び16時間であった[表 2.6.4.B-5]。血液クリアランスは9 mL/min/kg と推定され、サルの血液／血漿中濃度比である0.6 [2.6.5.B.10 項]を考慮すると、肝血流量（約44 mL/min/kg）と比較したとき、クリアランスは中程度であった。

表 2.6.4.B-5 雄性カニクイザルにエルバスビルを静脈内投与した際の
エルバスビルの薬物動態パラメータ[†]

投与量 (mg/kg)	投与経路	AUC _{0-∞} (μM·hr)	CL _p (mL/min/kg)	V _{dss} (L/kg)	t _{1/2} (hr)
1	静脈内	3.6 (0.2)	5.2 (0.3)	2.7 (0.4)	16 (4)
[†] : 平均値 (標準偏差)、n=3 [2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]					

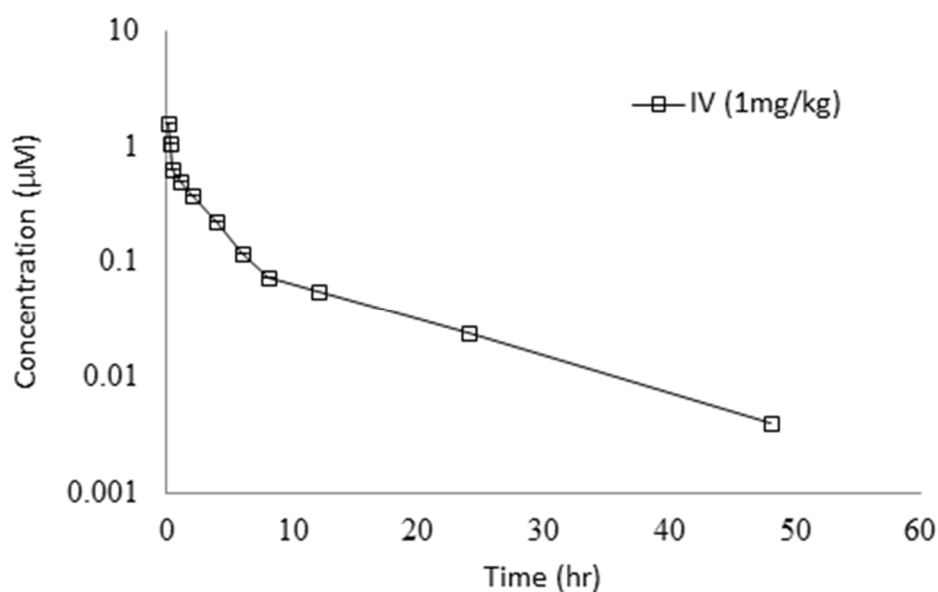


図 2.6.4.B-3 雄性カニクイザルにエルバスビル 1 mg/kg を静脈内投与した際の
エルバスビルの血漿中薬物濃度推移

平均値±標準偏差 (n=3) [2.6.5.B.3 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]

2.6.4.B.4 分布

2.6.4.B.4.1 組織分布（ラット）

[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

雄性白色ラット（Wistar Han）及び雄性有色ラット（Long Evans）に $[^{14}\text{C}]$ エルバスビル30 mg/kgを単回経口投与し、全身オートラジオグラフィにより、白色ラットでは投与後2、6、10、36、72及び168時間、有色ラットでは投与後6、10、72及び672時間の薬物由来放射能の組織分布について検討した[2.6.5.B.4 項] [2.6.5.B.5 項]。白色及び有色ラットのいずれにおいても、エルバスビルはほとんどの組織に分布し、組織中濃度は血中濃度と同程度又は上回っていた。一方、脳、骨及び水晶体への分布はわずかであった[2.6.5.B.4 項] [2.6.5.B.5 項]。エルバスビルはP-gpの基質であるため、期待された通り脳への分布はわずかであった[2.6.5.B.19 項]。腸管内容物を除き、放射能濃度が高かった（ $>5 \mu\text{g equiv/g}$ ）臓器は、副腎（投与後2時間で $10.0 \mu\text{g equiv/g}$ ）、肝臓（投与後2時間で $9.735 \mu\text{g equiv/g}$ ）及び腎皮質（投与後2時間で $6.45 \mu\text{g equiv/g}$ ）[2.6.5.B.4 項]であった。投与後2、6及び10時間での肝臓／血漿中（総放射能）濃度比は12～20であった[2.6.5.B.4 項]。白色ラットでは、投与後7日までに、脾臓、腎皮質、肝臓及びハーダー腺を除くすべての組織で放射能が定量下限未満となった。また、有色ラットでは、投与後28日までに、ブドウ膜を除くすべての組織で放射能が定量下限未満となった[2.6.5.B.4 項] [2.6.5.B.5 項]。有色及び白色ラットのブドウ膜における総放射能は、測定時点が重なる最も早い時点（投与後6時間）では同程度であった。しかし、その後の時点では、白色ラットでは定量下限未満まで放射能が低下したが[2.6.5.B.4 項] [2.6.5.B.5 項]、有色ラットでは最終時点の28日まで放射能が定量可能であった[2.6.5.B.5 項]。有色ラットで選択的に放射能が長期間認められたことから、エルバスビルはメラニンに結合する可能性がある。しかし、有色ラットで光毒性はみられなかったため、エルバスビルのメラニンへの結合の可能性が安全性上の懸念にはならないと考えられる[2.6.6.B.8.7.1 項]。

エルバスビルの肝臓及び脳への分布について、さらに Wistar Han ラットにエルバスビル30 mg/kgを経口投与し、LC/MS/MS法を用いて検討した。その結果、脳／血漿中 $\text{AUC}_{0-24 \text{ hr}}$ 比は0.3、肝臓／血漿中 $\text{AUC}_{0-24 \text{ hr}}$ 比は193であった[表 2.6.4.B-6]。脳への分布がわずかであったことは、全身オートラジオグラフィでの結果と一致する。しかし、肝臓／血漿中 AUC 比については、全身オートラジオグラフィの結果（肝臓／血漿中濃度比12～20）と比較して、LC/MS/MSによる解析ではエルバスビルの肝臓への分布の割合が高かった[2.6.5.B.4 項] [表 2.6.4.B-6]。2つの異なる解析方法の間でエルバスビルの肝臓への分布に定量的な差がみられた原因については不明である。しかしながら、これらの結果から、エルバスビルはHCV治療の標的臓器である肝臓に比較적으로よく分布することが示唆された。

表 2.6.4.B-6 雄性 Wistar Han ラットにエルバスビル 30 mg/kg を経口投与した際の
 エルバスビルの血漿、肝臓及び脳中薬物動態

	血漿	肝臓	脳
AUC _{0-24 hr} (ng·hr/g)	502 [†]	96793	131
組織／血漿中 AUC 比	-	193	0.3
平均値 (n=3) [†] : ng·hr/mL [2.6.5.B.6 項] [資料4.2.2.2.3: E-PK001]			

2.6.4.B.4.2 血漿蛋白結合

[資料4.2.2.6.17: E-PK002] [資料4.2.2.2.4: E-PK005] [資料4.2.2.3.8: E-PK012] [資料4.2.2.3.9: E-PK024]

エルバスビルの血漿蛋白結合を、平衡透析法を用いて評価した。ラット、マウス、ウサギ、イヌ、サル及びヒトで、エルバスビルの血漿蛋白結合率は高く、血漿中濃度1～10 µM の範囲で、ラット、マウス、イヌ、サル及びヒトにおける非結合型分率は0.001未満で、濃度非依存的であった[2.6.5.B.7 項]。ウサギにおける血漿中非結合型分率は他の動物種に比べて高かった（0.012）が、濃度依存的ではなかった[2.6.5.B.7 項]。

エルバスビルは、ヒト血清アルブミン及び α₁-酸性糖蛋白の生理学的濃度（各々40 mg/mL 及び1 mg/mL）において、いずれの血漿蛋白に対する結合率も高かった。ヒト血清アルブミンでは非結合型分率が0.005未満であり、α₁-酸性糖蛋白では、使用したアッセイプレートで非特異的な結合が観察されたため非結合型分率が非常に低くなり信頼できる値を算出できなかった[2.6.5.B.8 項]。これらの結果から、エルバスビルがヒト血清アルブミン及び α₁-酸性糖蛋白に結合することが、ヒト血漿中のエルバスビルの遊離型画分が低いことの一因であることが示唆された。

様々な程度の腎機能及び肝機能障害者におけるエルバスビルの血漿蛋白結合を評価した。対照である健康被験者と比較して、腎機能及び肝機能障害者のいずれにおいてもエルバスビルの血漿蛋白結合率は変化せず、非結合型分率は各々0.005未満及び0.003未満であった[2.6.5.B.9 項]。

2.6.4.B.4.3 血球移行性

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

エルバスビルを全血（新鮮血）とインキュベートし、エルバスビルの血球への移行性を評価した。エルバスビル濃度0.1、1及び10 µM における血液／血漿中濃度比の平均値は、ラット、イヌ、サル及びヒトで各々0.61、0.94、0.56及び0.62であった[2.6.5.B.10 項]。また、血液／血漿中濃度比は、薬物濃度に非依存的であった。これらのデータから、エルバスビルは血球に選択的に移行しないこと、並びに、これらの動物種においてエルバスビルの総血液クリアランスは血漿クリアランスよりある程度高いことが示唆された。

2.6.4.B.4.4 胎盤通過（ラット及びウサギ）

[資料4.2.2.3.10: E-TT 7050] [資料4.2.2.3.11: E-TT 7030]

妊娠ラット及びウサギに、エルバスビル1000 mg/kg/日を妊娠6～20日に経口投与し、妊娠20日に母動物及び胎児血漿中薬物濃度を測定することにより、エルバスビルの胎盤通過を評価した。いずれの動物種においても、投与後2及び24時間に母動物及び胎児の血液を採取し、エルバスビルの血漿中濃度を測定した。胎児／母動物血漿中濃度比は、ラット及びウサギで各々0.006～0.022及び0.006～0.008であった[表 2.6.4.B-7]。これらの結果から、エルバスビルはラット及びウサギの胎盤を通過するが、胎児血漿中濃度は母動物血漿中濃度のわずか0.6%～2%であることが示された。

表 2.6.4.B-7 妊娠ラット及びウサギにエルバスビル 1000 mg/kg/日を経口投与した際の
母動物及び胎児血漿中薬物濃度

動物種	投与量 (mg/kg/日)	時間 (hr)	血漿中エルバスビル濃度 (μM) [†]		比 (胎児／母動物)
			母動物	胎児	
ラット	1000	2	1.05 ± 0.161	0.00594 ± 0.000852	0.00608 ± 0.00108
		24	0.0522 ± 0.0522	0.00250 ± 0.000950	0.0220 ± ID
ウサギ	1000	2	1.60 ± 0.399	0.00917 ± 0.00319	0.00564 ± 0.000804
		24	1.22 ± 0.299	0.00889 ± 0.00207	0.00751 ± 0.000975

[†]: 平均値±標準誤差 (n=4)
ID: データ不十分
[2.6.5.B.11 項] [資料4.2.2.3.10: E-TT 7050] [資料4.2.2.3.11: E-TT 7030]

2.6.4.B.5 代謝

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるエルバスビルの推定代謝経路を[図 2.6.4.B-4]に示す。

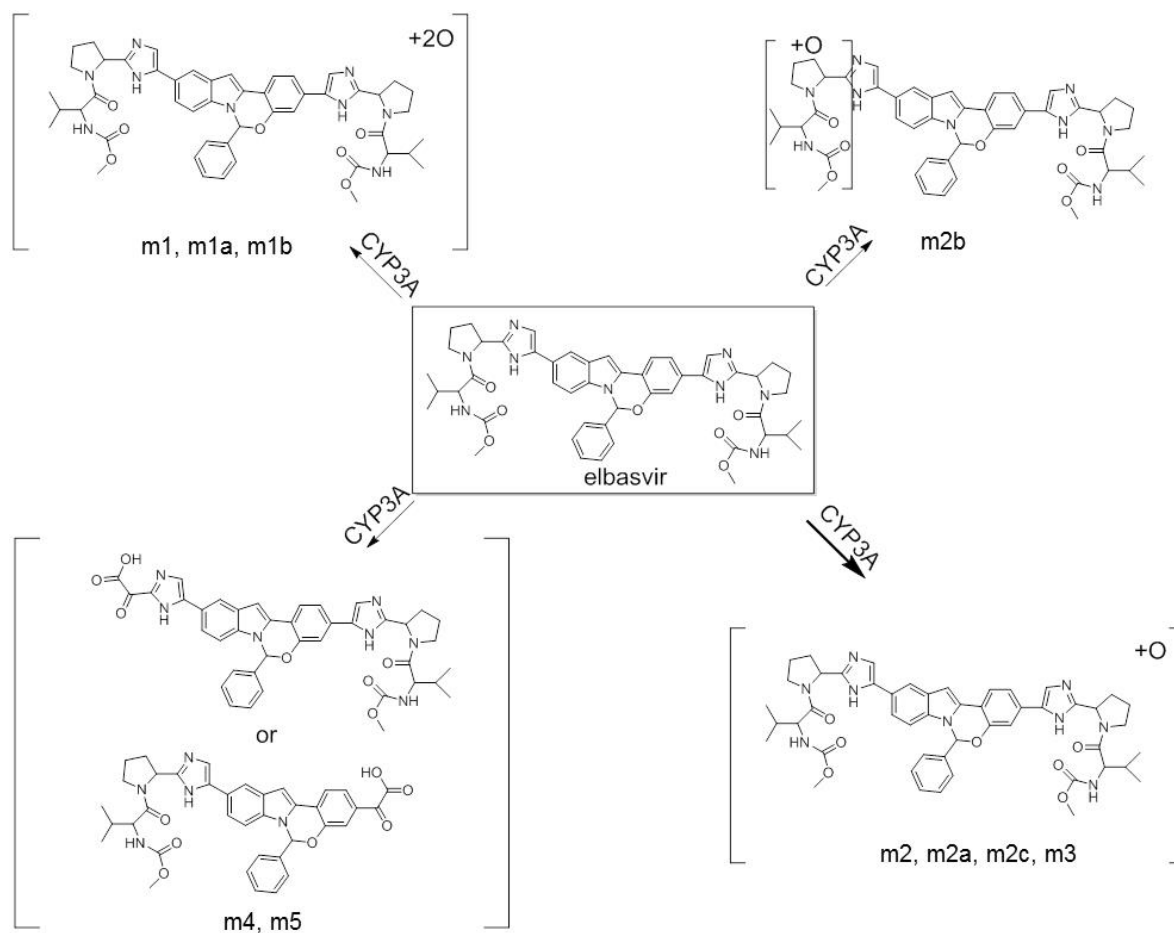


図 2.6.4.B-4 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるエルバスビルの推定代謝経路

[2.6.5.B.12 項] [2.6.5.B.13 項]

2.6.4.B.5.1 In vivo

2.6.4.B.5.1.1 ラット

[資料4.2.2.4.6: E-PK003] [資料4.2.2.5.4: E-PK017] [資料4.2.2.4.9: E-PK018]

無処置の雄性 Wistar Han ラット (n=4) に ^{14}C エルバスビル5 mg/kg を静脈内投与し、エルバスビルの in vivo での代謝を評価した[2.6.5.B.12 項]。エルバスビルは大部分が未変化体として胆汁 (投与量の20.1%)、尿 (投与量の16.2%) 及び糞中 (投与量の20.2%) に排泄され、胆汁、腎及び腸管への排泄 (投与量の56.5%) が主要排泄経路であることが示唆された[2.6.5.B.12 項]。投与量の15.4%が代謝物 m2及び m3として胆汁中に排泄され、酸化的代謝も消失に寄与していた[2.6.5.B.12 項]。代謝物 m2及び m3は、エルバスビルへ酸素を付加することによって生成される[図 2.6.4.B-4]。構造が明らかになっていない2つの微量の代謝物は、投与量の8%を占めていた[2.6.5.B.12 項]。

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラットに、Tween 80を10%/0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを90%で調製した ^3H エルバスビルを30 mg/kg 経口投与した際の代謝を評価した[2.6.5.B.12 項]。質量分析法により解析した結果、胆汁中に排泄された放射能は m2、m3及び未変化体で、微量の代謝物としてイミダゾール環が酸化的に切断されて生成する m4及び m5が検出された[2.6.5.B.12 項] [図 2.6.4.B-4]。

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラットに、 ^3H エルバスビル30 mg/kg を経口投与したとき、投与後1～8時間のプール血漿中からは、未変化体のみ検出された[2.6.5.B.12 項] [図 2.6.4.B-5]。

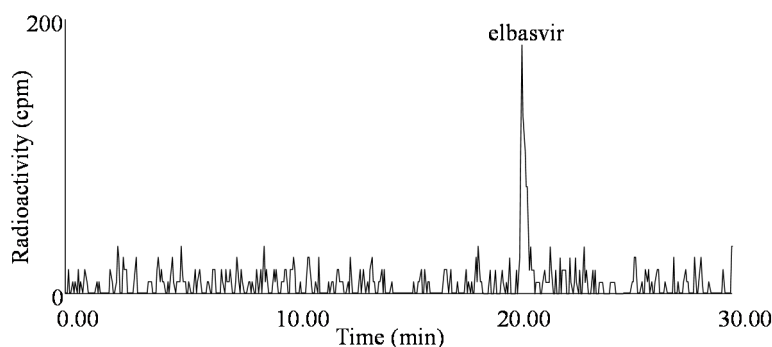


図 2.6.4.B-5 胆管カニューレ処置したラットに ^3H エルバスビル 30 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物 (1～8 時間のプール) の代表的ラジオクロマトグラム

[2.6.5.B.12 項] [資料4.2.2.4.6: E-PK003]

2.6.4.B.5.1.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.4: E-PK005]

無処置の雌性 Dutch-Belted ウサギに ^{14}C エルバスビル100 mg/kg を経口投与し、in vivo での代謝を評価した[2.6.5.B.12 項]。回収された放射能 (投与量の71%) の大部分は、糞中 (投与量の70%)

から検出された[2.6.5.B.14 項]。放射能検出器及び質量分析を用いて、ウサギ糞中の代謝プロファイルの評価した。ウサギ糞中に排泄された放射能の大部分は未変化体で、微量の酸化代謝物 m1a、m1b、m2a、m2b、m2c、m2、m3及び m4が質量分析により検出された[2.6.5.B.12 項]。また、ウサギ血漿でも代謝物のプロファイリングを実施した。ウサギ血漿中の放射能の大部分は未変化体で、微量の酸化代謝物 m2b 及び m4が検出された[2.6.5.B.12 項]。

2.6.4.B.5.1.3 イヌ

[資料4.2.2.4.6: E-PK003] [資料4.2.2.4.8: E-PK011] [資料4.2.2.5.3: E-PK016]

胆管カニューレ処置した雄性ビーグル犬に ^{14}C エルバスビル1 mg/kg を静脈内投与した際の排泄を評価した[2.6.5.B.12 項] [2.6.5.B.14 項]。放射能の大部分（投与量の57.1%）は、未変化体として胆汁（投与量の31.4%）及び糞中（投与量の25.7%）に排泄された[2.6.5.B.12 項]。また、微量（投与量の4.3%）の酸化代謝物 m2及び m3が胆汁及び糞中に排泄された[2.6.5.B.12 項] [図 2.6.4.B-4]。尿中には投与量の約3%しか排泄されなかったため、代謝プロファイリングは実施しなかった[2.6.5.B.14 項]。

胆管カニューレ処置した雄性ビーグル犬に ^{14}C エルバスビル2 mg/kg を経口投与した際の代謝を検討した[2.6.5.B.14 項]。静脈内投与試験の結果と同じく、胆汁及び糞中に排泄された放射能の大部分は未変化体であった[2.6.5.B.12 項]。また、経口投与後、微量の m2及び m3も胆汁及び糞中に検出された[2.6.5.B.12 項]。血漿中に循環する放射能で検出可能なものは、未変化体のみであった[2.6.5.B.12 項] [図 2.6.4.B-6]。

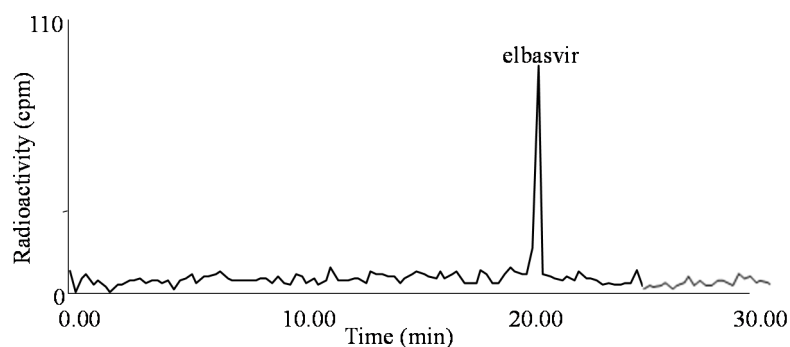


図 2.6.4.B-6 胆管カニューレ処置したイヌに ^{14}C エルバスビル 2 mg/kg を経口投与した際に得られた血漿抽出物（投与後 24 時間）の代表的ラジオクロマトグラム

[2.6.5.B.12 項] [資料4.2.2.4.6: E-PK003]

2.6.4.B.5.1.4 ヒト

[資料4.2.2.4.7: E-PK010] [資料4.2.2.5.2: E-PK013]

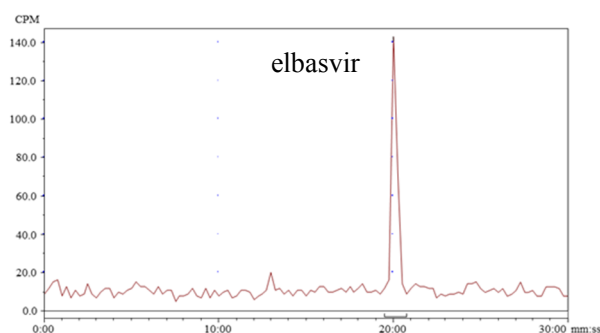
健康成人男性 (n=6) に PEG400に溶解した^[14C]エルバスビル50.3～51.4 mg (平均204 µCi) を経口投与したとき、投与後168時間までに投与量の大部分 (約94.1%) の放射能が糞中に排泄された[2.7.2.2.1.3.2 項] [2.6.5.B.14 項]。糞中 (投与後0～168時間のプール試料) に排泄された放射能は、未変化体 (投与量の約75%) 及び酸化代謝物 m2及び m3 (投与量の約19%) であった[2.6.5.B.12 項] [図 2.6.4.B-4]。酸化代謝物は細胞内でのみ生成されるため、ヒトでは経口投与したエルバスビルの少なくとも19%が吸収されたと推定された。尿中には投与量の約0.2%の放射能しか排泄されなかったことから、尿中代謝物のプロファイリングは実施しなかった[2.6.5.B.14 項]。ヒト糞中でみられた酸化代謝物 m2及び m3は、毒性試験の動物種であるラット、イヌ及びウサギでも検出されている[表 2.6.4.B-8]。

動物と同様に、放射能検出器及び LC/MS/MS のいずれにおいても、ヒト血漿中からは未変化体のみが検出された[2.6.5.B.12 項]。投与後3及び8時間のプール血漿における代表的なラジオクロマトグラムを[図 2.6.4.B-7]に示す。反復経口投与試験 (MK-8742-001試験) [2.7.2.2.1.1.2 項]においてエルバスビル200 mg を投与した全例の Day 10におけるプール試料を高分解能質量分析法 (HRMS) によりプロファイリングしたとき、未変化体のみが検出された[2.6.5.B.12 項]。

表 2.6.4.B-8 試験動物種及びヒトの排泄物中から検出されたエルバスビル及びその代謝物
(放射能検出器付き HPLC)

動物種	ラット		ウサギ		イヌ		ヒト	
投与量	5 mg/kg、静脈内 及び 30 mg/kg、経口		100 mg/kg、経口		1 mg/kg、静脈内 及び 2 mg/kg、経口		約50 mg、経口	
生体試料	胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞
エルバスビル	+	+	NS	+	+	+	NS	+
m2	+	-	NS	-	+	+	NS	+
m3	+	-	NS	-	+	+	NS	+
+ : 検出あり - : 検出なし NS : 試料を採取せず ラット、イヌ及びヒト血漿中に代謝物は検出されなかった。ウサギ血漿中には微量の酸化代謝物が検出された。 ラットに静脈内投与後尿中に m2及び m3が検出された。 [2.6.5.B.12 項]								

投与後3時間



投与後8時間

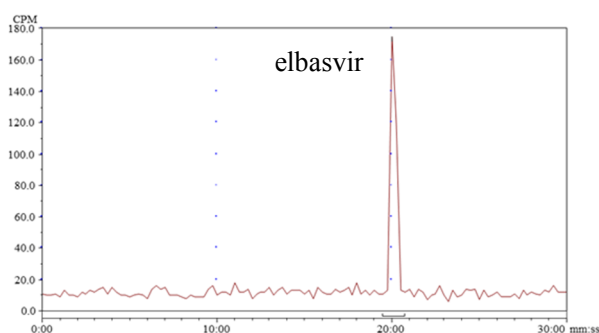


図 2.6.4.B-7 ヒトに ^{14}C エルバスビル 50 mg を経口投与した際に得られたプール血漿抽出物（投与後 3 及び 8 時間）の代表的なラジオクロマトグラム

[2.6.5.B.12 項] [資料4.2.2.4.7: E-PK010]

2.6.4.B.5.2 In vitro

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]、[資料4.2.2.2.4: E-PK005]

ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝ミクロソーム並びにラット、マウス、イヌ及びヒトの肝細胞を用いて、エルバスビルの *in vitro* 代謝を評価した[2.6.5.B.13 項]。いずれの動物種においても、エルバスビルの代謝物への生成率は低かった。ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝調製物の存在下で、2種類の一酸化代謝物 m2及び m3が同定された[2.6.5.B.13 項]。ラット、イヌ及びヒト肝細胞では、微量の二酸化代謝物 m1が検出され、ウサギ肝ミクロソームとのインキュベーションでは、2種類の二酸化代謝物 m1a 及び m1b が検出された[2.6.5.B.13 項]。マウス肝細胞では、m2のみ検出された[2.6.5.B.13 項]。酸化代謝物の定性的なプロファイルは、ラット、イヌ及びウサギで類似しており、*in vivo* での結果とも類似していた。

2.6.4.B.6 排泄

2.6.4.B.6.1 ラット

[資料4.2.2.4.6: E-PK003] [資料4.2.2.5.4: E-PK017] [資料4.2.2.4.9: E-PK018]

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラット (n=4) に ^{14}C エルバスビル5 mg/kg を静脈内投与したとき、放射能は投与後72時間までに、胆汁 (投与量の $41.0 \pm 4.1\%$)、糞 (投与量の $30.0 \pm 4.5\%$)、尿 (投与量の $16.9 \pm 1.8\%$) ケージ洗浄液及び拭取り紙 (投与量の $1.0 \pm 0.5\%$) から回収され、放射能の総回収率は $89.0 \pm 1.6\%$ であった[2.6.5.B.14 項] [表 2.6.4.B-9]。胆汁及び糞中の放射能の大部分が未変化体であったことから、ラットにおけるエルバスビル由来物質の主な排泄経路は、未変化体の直接的な胆汁中への排泄及び腸管からの分泌であることが示唆された[2.6.5.B.12 項]。

胆管カニューレ処置した雄性 Wistar Han ラットに ^3H エルバスビル30 mg/kg を経口投与したとき、放射能は投与後72時間までにその大部分が糞中 (投与量の $61.0 \pm 18.7\%$) に、次いで胆汁 (投与量の $7.8 \pm 1.1\%$) 及び尿中 (投与量の $0.8 \pm 0.4\%$) に排泄され、放射能の総回収率は $69.8 \pm 18.4\%$ であった[2.6.5.B.14 項]。このことから、ラットに経口投与したときの主な排泄経路は、 ^3H エルバスビルの糞中への排泄がであることが示された[2.6.5.B.14 項]。胆汁及び尿中の排泄率が低かったことは、ラットの F が低かったことと一貫していた。

2.6.4.B.6.2 ウサギ

[資料4.2.2.2.4: E-PK005]

ウサギに ^{14}C エルバスビル100 mg/kg を経口投与したとき、放射能の回収率は $71.1 \pm 17.1\%$ で、糞及び尿中に各々投与量の $69.8 \pm 16.7\%$ 及び $1.2 \pm 1.1\%$ が排泄された[2.6.5.B.14 項] [表 2.6.4.B-9]。

2.6.4.B.6.3 イヌ

[資料4.2.2.4.6: E-PK003] [資料4.2.2.4.8: E-PK011] [資料4.2.2.5.3: E-PK016]

胆管カニューレ処置したイヌ (3例で検討したが、うち1例の胆汁流量が低かったため2例の算術平均) に ^{14}C エルバスビル1 mg/kg を静脈内投与したとき、放射能は投与後72時間までに、胆汁 (投与量の 37.8%)、尿 (投与量の 3.3%) 糞 (投与量の 27.9%) に排泄された。ケージ洗浄液 (投与量の 0.5%) を含む放射能の総回収率は 69.4% であった[2.6.5.B.14 項] [表 2.6.4.B-9]。胆汁及び糞中の放射能の大部分が未変化体であったことから、イヌにおけるエルバスビルの主要排泄経路は、未変化体の胆汁中及び腸管への排泄であることが示唆された[2.6.5.B.12 項] [2.6.5.B.14 項]。

胆管カニューレ処置したイヌに ^{14}C エルバスビル2 mg/kg を経口投与したとき、放射能は投与後72時間までに、その大部分が糞中 (投与量の $60.8 \pm 29.4\%$) に、続いて胆汁 (投与量の $8.7 \pm 3.4\%$) 及び尿中 (投与量の $0.5 \pm 0.1\%$) に排泄された[2.6.5.B.14 項]。ケージ洗浄液／拭取り紙 (投与量の $0.5 \pm 0.8\%$) を含む総回収率は $70.5 \pm 25.9\%$ であった[2.6.5.B.14 項]。放射能の大部分は未変化体として糞中に排泄され、イヌの F が低かったことと一貫していた[2.6.5.B.12 項]。

2.6.4.B.6.4 ヒト

[資料4.2.2.4.7: E-PK010] [資料4.2.2.5.2: E-PK013]

健康成人男性 (n=6) を対象に PEG400 に溶解した [¹⁴C]エルバスビル 50.3～51.4 mg (平均 204 μCi) を経口投与したとき [2.7.2.2.1.3.2 項]、投与後最長 10 日間収集した糞及び尿中に、投与量に対して各々 94.1±5.7% 及び 0.2±0.1% の放射能が排泄され、放射能の平均総回収率は 94.3±5.7% であった [2.6.5.B.14 項] [表 2.6.4.B-9]。このことから、ヒトにおけるエルバスビルの主要排泄経路は糞中排泄と考えられた。糞中に排泄された放射能の大部分は未変化体であった [2.6.5.B.12 項]。試験動物種がヒトを代表すると考えたとき、糞中の未変化体は、未吸収薬物、腸管からの分泌及び胆汁排泄によるものと考えられる。PBPK モデルを用いた場合、エルバスビルの吸収率は約 40% と推定された [2.7.2.2.6.1.2 項]。仮に、エルバスビルの約 40% が吸収され、投与量の 19% が酸化代謝物として消失する場合 [2.6.5.B.12 項]、エルバスビルの排泄において未変化体及び酸化代謝物の排泄はほぼ同程度寄与していると考えられる。

表 2.6.4.B-9 ラット、ウサギ、イヌ及びヒトに [³H]又は [¹⁴C]エルバスビルを単回静脈内又は経口投与した際の放射能の排泄

投与量 (mg/kg)	投与経路 (例数)	投与量に対する割合 (%)			
		尿	胆汁	糞	合計 [†]
ラット (0-72 hr)					
5	静脈内 (n=4)	16.9 ± 1.8	41.0 ± 4.1	30.0 ± 4.5	89.0 ± 1.6
30	経口 (n=4)	0.8 ± 0.4	7.8 ± 1.1	61.0 ± 18.7	69.8 ± 18.4
ウサギ (0-72 hr)					
100	経口 (n=3)	1.2 ± 1.1	NC	69.8 ± 16.7	71.1 ± 17.1
イヌ (0-72 hr)					
1	静脈内 (n=2) [‡]	3.3	37.8	27.9	69.4
2	経口 (n=3)	0.5 ± 0.1	8.7 ± 3.4	60.8 ± 29.4	70.5 ± 25.9
ヒト (0-240 hr)					
50-51 [§]	経口 (n=6)	0.2 ± 0.1	NC	94.1 ± 5.7	94.3 ± 5.7
平均値±標準偏差 NC：採取せず [†] ：ケージ洗浄液を含む [‡] ：平均値 [§] ：mg [2.6.5.B.14 項] [資料4.2.2.4.6: E-PK003] [資料4.2.2.5.4: E-PK017] [資料4.2.2.2.4: E-PK005] [資料4.2.2.5.3: E-PK016] [資料4.2.2.5.2: E-PK013]					

2.6.4.B.6.5 乳汁排泄（ラット）

[資料4.2.2.3.10: E-TI 7050]

授乳ラットの乳汁中へのエルバスビルの排泄を調べた。妊娠 6 日から授乳 14 日までエルバスビル 1000 mg/kg/日を経口投与し、授乳 14 日の最終投与 2 時間後に母動物の血漿及び乳汁中の薬物濃度を測定した [2.6.5.B.15 項]。投与後 2 時間の母動物の血漿及び乳汁中エルバスビル濃度は各々 1.40±0.150 及び 5.75±0.629 μM で、乳汁／血漿中濃度比は 4.15±0.264 (平均値±標準誤差、n=4) であった [2.6.5.B.15 項]。この結果から、授乳ラットの乳汁中にエルバスビルが排泄されることが示された。

2.6.4.B.7 薬物動態学的薬物間相互作用

2.6.4.B.7.1 エルバスビルの消失に関与する薬物代謝酵素及びトランスポーター

[資料4.2.2.6.17: E-PK002] [資料4.2.2.6.18: E-PK004] [資料4.2.2.6.22: E-PK014] [資料4.2.2.6.23: E-PK015]

エルバスビルは *in vitro* において CYP3A 及び P-gp の基質である。

エルバスビルの酸化代謝（ヒト糞中に排泄された酸化代謝物 m2及び m3の生成）に関与する CYP 酵素を、ヒト遺伝子組換え型 CYP (rCYP) 及び肝ミクロソームを用いて評価した。阻害薬及び CYP3A に選択的なモノクローナル抗体を用いた検討から、エルバスビルの代謝は CYP3A を介することが示唆された[2.6.5.B.16 項]。

ヒト酸化代謝物 m2及び m3の生成速度を、rCYP3A4を用いて検討した[2.6.5.B.17 項]。両代謝物の生成速度は二相性を示した。Eadie-Hofstee 変換したときの反応速度を[表 2.6.4.B-10]に示す。

表 2.6.4.B-10 CYP3A4 によるエルバスビルの代謝物 (m2/m3) 生成の反応速度

代謝物	K _m (μM)		V _{max} (pmol/min/pmol P450)	
	K _{m1}	K _{m2}	V _{max1}	V _{max2}
m2	0.7 ± 0.1	3.7 ± 1.6	0.4 ± 0.0	0.6 ± 0.1
m3	0.8 ± 0.1	4.6 ± 2.1	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.2
平均値±標準誤差 [2.6.5.B.17 項]				

ヒト肝細胞における取り込みアッセイにおいて、エルバスビルは、非特異的結合によるバックグラウンドレベルが高かったにもかかわらず、わずかに温度依存的な取り込みを示し、その取り込みは既知の OATP1B 及び OCT1阻害薬であるリファマイシン SV、リファンピシン及びキニジンによって阻害されなかった[2.6.5.B.18 項]。一方、エルバスビルの取り込みに対してシクロスポリン A が弱い阻害作用を示したことから、シクロスポリン A に感受性のあるトランスポーターがエルバスビルの取り込みに関与していることが示唆された[2.6.5.B.18 項]。MDCKII 及び HEK293 の遺伝子導入株を用いた追加の *in vitro* 試験から、エルバスビルは OATP1B1及び OATP1B3の基質ではないと考えられた[2.6.5.B.19 項]。

さらに、P-gp 又は BCRP 発現 MDCKII 細胞を用いて、エルバスビルが P-gp 及び BCRP の基質となる可能性についても検討した。その結果、エルバスビルは P-gp の基質であることが示されたが、BCRP の基質かどうかについては確定的な判断はできなかった[2.6.5.B.19 項]。MDCKII 細胞におけるエルバスビルの受動的膜透過性は、 $0.7 \sim 4.7 \times 10^{-6}$ cm/sec と低かった[2.6.5.B.19 項]。数種の遺伝子導入細胞株及び対照細胞株において、非特異的結合が高いこと及び内因性輸送がみられたことを考慮すると、エルバスビルがこれらトランスポーターの基質であるかどうかを明らかにすることは技術的に困難であり、また得られた結果についても注意が必要である。

2.6.4.B.7.2 薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する阻害

[資料4.2.2.6.24: E-PK019] [資料4.2.2.6.17: E-PK002] [資料4.2.2.6.21: E-PK009]
[資料4.2.2.6.19: E-PK006] [資料4.2.2.6.28: E-PK023] [資料4.2.2.6.27: E-PK022]
[資料4.2.2.6.18: E-PK004] [資料4.2.2.6.20: E-PK007] [資料4.2.2.6.26: E-PK021]
[資料4.2.2.6.30: E-PK026]

一般的な CYP 分子種、UGT1A1、CES1、CES2、CatA 及び一般的なトランスポーターに対するエルバスビルの *in vitro* 阻害作用について[表 2.6.4.B-11]にまとめた。

エルバスビルが、一般的な7種類のヒト肝臓 CYP 分子種又は UGT1A1 に対してプレインキュベーションに非依存的な阻害作用を示すかどうかを、ヒト肝ミクロソームを用いて評価した。エルバスビルは、CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6及び3A4 (IC_{50} 値 $>100\ \mu M$)、並びに UGT1A1 (IC_{50} 値 $=71\ \mu M$) に対する強力な阻害薬ではなく、また、CYP3A の時間依存的阻害薬ではなかった[2.6.5.B.20 項] [2.6.5.B.21 項] [2.6.5.B.22 項]。また、エルバスビルは CES1、CES2及び CatA を阻害せず、それらの IC_{50} 値は $>50\ \mu M$ であった[2.6.2.B.3.1.1 項]。以上の結果から、エルバスビルの予定臨床用量50 mg の平均 C_{max} 値が $0.177\ \mu M$ であったことに基づくと[2.7.2.3.2.1 項]、エルバスビルは CYP、UGT1A1、CES1、CES2及び CatA を阻害しないと予測される。

エルバスビルは緩衝液における溶解度が低いため、トランスポーター阻害試験にて検討可能であった最高濃度は $0.3\sim0.5\ \mu M$ であった。ヒト MDR1 (P-gp) を過剰発現した LLC-PK 細胞における $[^3H]$ ジゴキシンの輸送に対して、エルバスビル ($0.5\ \mu M$ まで) の最大阻害活性は陰性対照の30%未満であった[2.6.5.B.23 項]。エルバスビルが P-gp の阻害薬かどうかを判断するため、膜ベシクルを用いた試験を実施したところ、エルバスビルは P-gp を阻害し、 IC_{50} は $0.32\pm0.02\ \mu M$ であった[2.6.5.B.23 項]。

エルバスビルの BCRP 阻害能は、P-gp に対する *in vitro* での阻害活性と同程度であった。BCRP を含む膜ベシクルにおいて、エルバスビルはメトトレキサートの取り込みを阻害し、その IC_{50} 値は $0.15\pm0.02\ \mu M$ と推定された[2.6.5.B.23 項]。臨床での C_{max} 値 ($0.177\ \mu M$) が比較的 low、血漿蛋白結合率が高い ($>99\%$) ことを考慮すると、エルバスビルは全身濃度において P-gp 及び BCRP を阻害しないと予測されるが、溶解度 (pH5以上で $1\ \mu M$ 未満) を考慮しない場合には、50 mg の用量で腸管内の理論上最高濃度が $227\ \mu M$ となるため、これらのトランスポーターを腸管で阻害する可能性は否定できない。

エルバスビルは、OATP1B1発現 MDCKII 細胞における $[^3H]$ ピタバスタチンの輸送を阻害し (濃度 $0.05\sim0.5\ \mu M$ で $16\%\sim23\%$ 阻害)、また、OATP1B3発現 MDCKII 細胞における $[^3H]$ コレシストキニンオクタペプチドの輸送を阻害した ($IC_{50}=0.10\pm0.01\ \mu M$) [2.6.5.B.23 項]。 IC_{50} 値を肝臓に入る血液中の推定最高濃度と比較したとき (OATP1B3に対する R 値 $=1.4$)、エルバスビル50 mg は OATP1B を阻害する可能性がある[資料4.3: 18] [資料4.3: 19]。しかし、OATP1B の基質であるグラゾプレビルと同時投与してもグラゾプレビルの薬物動態が影響を受けなかったことから[2.7.2.2.4.2.2 項]、エルバスビル50 mg は臨床的に意味のある OATP1B の阻害薬ではないと考えら

れる。

エルバスビルによる OAT1、OAT3及び OCT2の阻害を評価した結果、IC₅₀はいずれも>0.5 µM であった[2.6.5.B.23 項]。臨床用量50 mg を投与したときの非結合型薬物の C_{max} は<0.002 µM と非常に低いことから、エルバスビルは腎排泄に関わるこれらのトランスポーターを阻害しないと予測される。

BSEP、MRP2、MRP3又は MRP4を含有する膜ベシクルにおいて、エルバスビルは溶解度が低いため、本試験系で検討可能であった最高濃度0.3 µM において、MRP4を介した葉酸の取り込みを42%阻害したが、BSEP、MRP2及び MRP3に対する阻害作用はみられなかった。OATP1B3に対する in vitro での IC₅₀値との相対比較、並びにエルバスビルが臨床的に有意な OATP1B の阻害薬ではないことに基づくと、エルバスビル50 mg は、BSEP、MRP2、MRP3及び MRP4についても臨床的に意味のある阻害薬ではないと考えられる。

表 2.6.4.B-11 エルバスビルの酵素及びトランスポーターに対する阻害能

酵素／トランスポーター	IC ₅₀ (µM)
CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4	>100
UGT1A1	70.9 ± 12.7 [†]
CES1	>50
CES2	>50
CatA	>50
P-gp	膜ベシクル試験：0.32 ± 0.02 µM [‡] 双方向輸送試験では測定しなかった
OATP1B1	>0.5
OATP1B3	0.10 ± 0.01 [‡]
BCRP	0.15 ± 0.02 [‡]
BSEP	>0.3
MRP2	>0.3
MRP3	>0.3
MRP4	≥0.3
OAT1	>0.5
OAT3	>0.5
OCT2	>0.5
[†] ：平均値±標準偏差 [‡] ：平均値±標準誤差 [2.6.5.B.20 項] [2.6.5.B.22 項] [2.6.5.B.23 項] [2.6.2.B.3.1.1 項]	

2.6.4.B.7.3 チトクローム P450の誘導

[資料4.2.2.6.25: E-PK020]

ヒト肝細胞を用いて、エルバスビルが CYP3A4、CYP1A2及び CYP2B6を誘導する可能性について評価した。異なるドナーから得られたヒト肝細胞 (n=3) を、エルバスビル (0.1～20 µM) と48時間インキュベートした。エルバスビルに、臨床的に意味のある CYP3A4、CYP1A2及び CYP2B6の誘導能は認められなかった(酵素活性及び mRNA が増加した割合は、各々の陽性対照、リファンピシン10 µM、オメプラゾール50 µM、及びフェノバルビタール1000 µM の20%未満) [2.6.5.B.24 項]。

2.6.4.B.8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.B.9 考察及び結論

2.6.4.A.9項参照。

CTD 第 2 部

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

MSD 株式会社

目次

	頁
略号及び用語の定義.....	4
2.6.5.A 薬物動態試験概要表（グラゾプレビル）	6
2.6.5.A.1 薬物動態試験：一覧表	7
2.6.5.A.2 分析法及びバリデーション試験	10
2.6.5.A.3 薬物動態試験：吸収：単回投与	11
2.6.5.A.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）	13
2.6.5.A.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）	16
2.6.5.A.6 薬物動態試験：分布：単回投与（Wistar Hannover Rats）	19
2.6.5.A.7 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（Rats）	20
2.6.5.A.8 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（イヌ）	22
2.6.5.A.9 薬物動態試験：蛋白結合（血漿蛋白、可逆的結合）	24
2.6.5.A.10 薬物動態試験：蛋白結合（ヒト血清アルブミン、 α_1 -酸性糖蛋白、可逆的結合）	25
2.6.5.A.11 薬物動態試験：蛋白結合（腎及び肝機能障害者における可逆的結合）	26
2.6.5.A.12 薬物動態試験：血球移行性	27
2.6.5.A.13 薬物動態試験：胎盤通過	28
2.6.5.A.14 薬物動態試験：代謝：In Vivo	29
2.6.5.A.15 薬物動態試験：代謝：In Vitro	32
2.6.5.A.16 薬物動態試験：蛋白結合（共有結合）	33
2.6.5.A.17 薬物動態試験：マスバランス	34
2.6.5.A.18 薬物動態試験：乳汁排泄	35
2.6.5.A.19 薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング	36
2.6.5.A.20 薬物動態試験：代謝：CYP3A4による代謝物の動態	38
2.6.5.A.21 薬物動態試験：肝細胞への取り込み（ラット、ヒト）	39
2.6.5.A.22 薬物動態試験：ラット P-gp 及び Oatp1b2 を介した輸送	40
2.6.5.A.23 薬物動態試験：ヒト P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 を介した輸送	41
2.6.5.A.24 薬物動態試験：HEK293細胞に一過性に発現させたヒト OATP1B1 又は OATP1B3 を介した本薬の取り込み	42
2.6.5.A.25 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450 に対する可逆的阻害作用	43
2.6.5.A.26 薬物動態試験：ヒト CYP3A に対する時間依存的阻害作用	44
2.6.5.A.27 薬物動態試験：ヒト CYP2C8 に対する時間依存的阻害作用	45
2.6.5.A.28 薬物動態試験：ヒト UGT1A1 に対する時間阻害作用	46

2.6.5.A.29	薬物動態試験：ヒト P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3及び OCT2を介した輸送に対する阻害作用	47
2.6.5.A.30	薬物動態試験：ヒト肝細胞（HepatoPac™）におけるタウロコール酸の胆汁排泄に対する阻害作用	48
2.6.5.A.31	薬物動態試験：ヒト CYP3A4、CYP2B6及び CYP1A2の誘導	49
2.6.5.A.32	薬物動態試験：本薬存在下でのピタバスタチン及びアトルバスタチンの肝取り込み及び代謝に関する検討（In Vitro）	52
2.6.5.A.33	薬物動態試験：ヒト肝細胞におけるアトルバスタチンの代謝経路に及ぼす本薬の阻害作用	54
2.6.5.A.34	薬物動態試験：ヒト OATP1B1及び OATP1B3を介した本薬の取り込みに及ぼす HIV プロテアーゼインヒビターの阻害作用	56
2.6.5.B	薬物動態試験概要表（エルバスビル）	57
2.6.5.B.1	薬物動態試験：一覧表	58
2.6.5.B.2	分析法及びバリデーション試験	61
2.6.5.B.3	薬物動態試験：吸収：単回投与	62
2.6.5.B.4	薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）	63
2.6.5.B.5	薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）	66
2.6.5.B.6	薬物動態試験：分布：肝臓及び脳、単回投与	69
2.6.5.B.7	薬物動態試験：蛋白結合（血漿蛋白、可逆的結合）	70
2.6.5.B.8	薬物動態試験：蛋白結合（ヒト血清アルブミン、 α_1 -酸性糖蛋白、可逆的結合）	71
2.6.5.B.9	薬物動態試験：蛋白結合（腎及び肝機能障害者における可逆的結合）	72
2.6.5.B.10	薬物動態試験：血球移行性	73
2.6.5.B.11	薬物動態試験：胎盤通過	74
2.6.5.B.12	薬物動態試験：代謝：In Vivo	75
2.6.5.B.13	薬物動態試験：代謝：In Vitro	77
2.6.5.B.14	薬物動態試験：マスバランス	78
2.6.5.B.15	薬物動態試験：乳汁排泄	79
2.6.5.B.16	薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング	80
2.6.5.B.17	薬物動態試験：代謝：CYP3A4による代謝物の動態	82
2.6.5.B.18	薬物動態試験：ヒト肝細胞への取り込み	83
2.6.5.B.19	薬物動態試験：ヒト P-Glycoprotein、BCRP、OATP1B1及び OATP1B3を介した輸送	84
2.6.5.B.20	薬物動態試験：ヒトチトクローム P450に対する可逆的阻害作用	85
2.6.5.B.21	薬物動態試験：ヒト CYP3A に対する時間依存的阻害作用	86
2.6.5.B.22	薬物動態試験：ヒト UGT1A1に対する阻害作用	87

2.6.5.B.23	薬物動態試験：ヒト P-Glycoprotein、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、 MRP3、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2を介した輸送に対する阻害作用.....	88
2.6.5.B.24	薬物動態試験：ヒトチトクローム P450 3A4、2B6及び1A2の誘導	90

略号及び用語の定義

略語	定義	
ADME	Absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝、排泄
AUC	Area under the drug concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BDC	Bile duct-cannulated	胆管カニューレ処置した動物
BEI	Biliary excretion index	胆汁排泄指数
b.i.d.	Bis in die	1日2回投与
BLQ	Below limit of quantification	定量下限未満
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸トランスポーター
CatA	Cathepsin A	カテプシン A
CES	Carboxylesterase	カルボキシエステラーゼ
CL _{biliary}	Biliary Clearance	胆汁クリアランス
CL _p	Plasma clearance	血漿クリアランス
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
ESRD	End stage renal disease	末期腎不全者
F	Oral bioavailability	経口投与時の絶対バイオアベイラビリティ
GD	Gestation day	妊娠日
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HCV	Hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HRMS	High-resolution mass spectrometry	高分解能質量分析
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ID	Insufficient data	データ不十分
[I] _{gut}	Maximal theoretical concentration in the gut	腸管内理論上最高濃度
ISEF	Intersystem extrapolation factor	-
LC/MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD	Lactation day	授乳日
LLC-PK	Lilly laboratory cells-porcine kidney	ブタ腎臓近位尿細管由来の上皮細胞株
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
MDCK	Madin-Darby canine kidney	メイディン・ダービー・イヌ腎臓細胞
MDR1	Multidrug resistance protein 1	多剤耐性関連蛋白1
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MRP	Multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連蛋白質

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

略語	定義	
NA	Not applicable	該当なし
NADPH	β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
ND	Not detectable, Not determined	検出せず、 算出せず
NI	No inhibition	阻害せず
NR	Not reported	報告せず
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	Apparent permeability	見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
qd	Quaque die	1日1回投与
rCYP	Recombinant cytochrome P450	遺伝子組換えチトクローム P450
SD	Standard deviation	標準偏差
SE	Standard error	標準誤差
$t_{1/2}$	Elimination half-life	消失半減期
UGT	Uridine diphosphate-glucuronosyl transferase	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{dss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A 薬物動態試験概要表（グラゾプレビル）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 6 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：グラゾプレビル

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号
吸収（単回投与）				
薬物動態及び経口バイオアベイラビリティ	ラット、イヌ	静脈内、経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.1: G-PK001]
薬物動態	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.2: G-PK004]
分布				
単回投与時の組織分布	ラット	経口	■ MRL	評価 [資料4.2.2.3.2: G-PK015] 評価 [資料4.2.2.4.1: G-PK002]
単回投与時の肝臓への分布	ラット、イヌ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.1: G-PK001] 評価 [資料4.2.2.3.1: G-PK005]
血漿蛋白結合	ラット、ウサギ、イヌ、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.2.2: G-PK004]
ヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白への結合	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.3.6: G-PK021]
腎及び肝障害者における血漿蛋白結合	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.3.3: G-PK020] 評価 [資料4.2.2.3.6: G-PK021]
血球移行	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003]
胎盤通過	ラット、ウサギ	静脈内、経口	MRL	評価 [資料4.2.2.3.5: G-TT ■ 7040] 評価 [資料4.2.2.3.4: G-TT ■ 7420]
代謝				
血漿、尿、胆汁、糞中代謝物	ラット	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.4.1: G-PK002]
血漿、尿、糞中代謝物	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.2: G-PK004]
血漿、尿、胆汁、糞中代謝物	イヌ	静脈内、経口	MRL, ■	評価 [資料4.2.2.4.4: G-PK018]
血漿、尿、糞中代謝物	ヒト	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.4.2: G-PK009]
肝ミクロソーム、肝細胞、糞中代謝物	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.2.2: G-PK004] 評価 [資料4.2.2.4.5: G-PK026] 評価 [資料4.2.2.4.2: G-PK009]
肝ミクロソーム及び肝細胞における蛋白結合	ラット、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.4.3: G-PK012]

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 7 -

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：グラゾプレビル

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号
排泄				
マスバランス（尿、胆汁、糞）	ラット	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.4.1: G-PK002]
マスバランス（尿、糞）	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.2: G-PK004]
マスバランス（尿、胆汁、糞）	イヌ	静脈内、経口	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.4.4: G-PK018]
マスバランス（尿、糞）	ヒト	経口	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.5.1: G-PK016]
乳汁排泄	ラット	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.3.5: G-TT [REDACTED] 7040]
薬物動態学的薬物相互作用（非臨床）				
CYP フェノタイピング	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.6.6: G-PK011]
CYP3A4の代謝物の動態	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.12: G-PK023]
肝細胞への取り込み	ラット、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003]
P-gp、OATP1B2輸送	ラット	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003]
P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3輸送	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.6.2: G-PK006]
OATP1B1、OATP1B3輸送	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.15: G-PK027]
ヒト CYP 阻害	ヒト	In vitro	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.7: G-PK013]
CYP3A 及び2C8阻害	ヒト	In vitro	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.6.14: G-PK025]
UGT1A1阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.4: G-PK008]
P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2輸送	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.6.3: G-PK007] 評価 [資料4.2.2.6.5: G-PK010] 評価 [資料4.2.2.6.9: G-PK017] 評価 [資料4.2.2.6.29: G-PK030]
肝細胞タウロコール酸の胆汁排泄に対する阻害作用	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.13: G-PK024]
CYP3A4、2B6及び1A2誘導	ヒト	In vitro	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.1: G-PK003] 評価 [資料4.2.2.6.8: G-PK014]

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：グラゾプレビル

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号
薬物動態学的薬物相互作用（非臨床）（続き）				
ピタバスタチン及びアトルバスタチンの肝取り込み及び代謝に対する阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.10: G-PK019]
アトルバスタチンの肝代謝経路に対する阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.16: G-PK029]
本薬の OATP1B1、OATP1B3輸送に対する HIV プロテアーゼインヒビターの阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.11: G-PK022]

[Redacted]

MRL：Merck Research Laboratories (Rahway, NJ, and West Point, PA).

[Redacted]

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.2 分析法及びバリデーション試験

[2.6.4.A.2 項]参照

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 10 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rabbit/Dutch-belted
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.2: G-PK004]
Number of animals/Gender	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male	3/Female
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Non-fasted
Vehicle/Formulation	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 200 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Suspension
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.	IV	P.O.
Dose (mg/kg)	5	25	100	2	200
Radionuclide	-	-	-	-	³ H
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters (Mean ± SD):					
AUC _{0-∞} (μM·hr)	0.7 ± 0.3	61.0 ± 44.8	258 ± 79	2.3 ± 1.6	68 ± 113
Total CL _p (mL/(min·kg))	NA	NA	NA	27.8 ± 21.9	NA
V _{dss} (L/kg)	NA	NA	NA	3.1 ± 2.6	NA
t _{1/2} (hr)	NA	NA	NA	1.4 ± 0.6	NA
C _{max} (μM)	0.3 ± 0.1	12.3 ± 6.1	40.2 ± 9.4	NA	8.0 ± 13
T _{max} (hr)	4.0 ± 0.0	4.0 ± 2.0	8.0 ± 0.0	NA	1.5 ± 2.2
Bioavailability (%)	13 ^a	NA	NA	NA	NA

a： バイオアベイラビリティは、ラット静脈内投与及び経口投与時の AUC_{0-∞} 平均値より算出した。

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]
Number of animals/Gender	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 200; Solution
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.	IV
Dose (mg/kg)	1	5	10	20	30	0.5
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters (Mean ± SD):						
AUC _{0-∞} (μM·hr)	0.4 ± 0.3 ^b	41.3 ± 31.8	66.9 ± 82.7	237 ± 139	486 ± 420	2.2 ± 0.9
Total CL _p (mL/(min·kg))	NA	NA	NA	NA	NA	5.2 ± 1.7
V _{dss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	0.7 ± 0.1
t _{1/2} (hr)	NA	NA	NA	NA	NA	3.0 ± 0.8
C _{max} (μM)	0.1 ± 0.1	7.1 ± 4.1	10.3 ± 11.6	25.6 ± 15.2	42.5 ± 33.4	NA
T _{max} (hr)	4.7 ± 1.2	2.0 ± 0.0	2.3 ± 1.5	2.7 ± 1.2	2.7 ± 1.2	NA
Bioavailability (%)	12 ± 9	NA ^c	NA ^c	NA ^c	NA ^c	NA ^c

b : AUC_{0-6 hr} ; 終末相のデータが十分でなく、消失相の傾きが評価できなかったため AUC_{0-∞}を推定できず、AUC_{0-6hr}を算出。

c : ビーグル犬に5～30 mg/kg を経口投与したとき、AUC_{0-∞}が投与量の増加に伴い用量比を超えた増加を示したため、バイオアベイラビリティの推定は行わなかった。

NA : 該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

Species/Strain: Rat/Wistar Han		Number of animals (M/F): 6 (1 per time point)/Male			Feeding condition: Fasted		
Vehicle/Formulation: 100% Polyethylene Glycol 400 / Solution		Method of administration: P.O.			Dose (mg/kg): 50		
Radionuclide: ¹⁴ C		Specific activity: 80.69 μCi/mg			Assay: Quantitative Whole-Body Autoradiography		
		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)					
Sampling Time (hr):		4	8	24	72	168	336
Tissue type	Tissue						
Vascular/Lymphatic	Arterial wall	5800	22600	ND	ND	ND	ND
	Blood	5100	8890	ND	ND	ND	ND
	Bone Marrow	2800	6750	ND	ND	ND	ND
	Lymph Node(s)	3010	8150	ND	ND	ND	ND
	Spleen	3000	8670	ND	ND	ND	ND
	Thymus	2480	9990	ND	ND	ND	ND
Excretory/Metabolic	Bile	ND	255000	24000	ND	ND	ND
	Kidney Cortex	11200	26100	ND	ND	ND	ND
	Kidney Medulla	7490	18100	ND	ND	ND	ND
	Kidney(s)	8960	21300	ND	ND	ND	ND
	Liver	162000	207000 ^A	8120	799	BLQ	ND
	Urinary Bladder	2640	7720	ND	ND	ND	ND
	Urine	2860	1290	ND	ND	ND	ND
Central Nervous System	Brain Cerebellum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	Brain Cerebrum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	Brain Medulla	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後4、8、及び24時間で各々7770、16200及び53.5 ng equivalents/g tissue であり、投与後72、168及び336時間では定量下限未満であった。

BLQ：定量下限未満（<453 ng equivalents/g tissue）

ND：検出せず

A：投与後8時間の肝臓中放射能は、投与量（50 mg/kg）の18%と推定される。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)					
Sampling Time (hr):		4	8	24	72	168	336
Tissue type	Tissue						
Central Nervous System (Cont.)	Brain Olfactory Lobe	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	Spinal Cord	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Endocrine	Adrenal Gland(s)	6120	18800	ND	ND	ND	ND
	Pituitary Gland	3740	9070	ND	ND	ND	ND
	Thyroid	5230	10300	ND	ND	ND	ND
Secretory	Exorbital Lacrimal Gland	6810	19800	ND	ND	ND	ND
	Intraorbital Lacrimal Gland	7030	17500	ND	ND	ND	ND
	Harderian Gland	4490	16500	ND	ND	ND	ND
	Pancreas	2970	9440	BLQ	ND	ND	ND
	Preputial Gland	2580	7310	ND	ND	ND	ND
	Salivary Gland(s)	5150	13500	ND	ND	ND	ND
Fatty	Fat (adominal)	1670	7080	ND	ND	ND	ND
	Fat (brown)	5250	19800	ND	ND	ND	ND
Dermal	Skin (non-pigmented)	1610	6350	ND	ND	ND	ND
Reproductive	Bulbo-urethral Gland	5830	13000	ND	ND	ND	ND
	Epididymis	1540	4820	ND	ND	ND	ND
	Prostate Gland	3130	8070	ND	ND	ND	ND
	Seminal Vesicle(s)	1440	3770	ND	ND	ND	ND
	Testis(es)	651	2210	ND	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後4、8、及び24時間で各々7770、16200及び53.5 ng equivalents/g tissue であり、投与後72、168及び336時間では定量下限未満であった。

BLQ： 定量下限未満（<453 ng equivalents/g tissue）

ND： 検出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)					
Sampling Time (hr):		4	8	24	72	168	336
Tissue type	Tissue						
Skeletal/Muscular	Bone	BLQ	547	ND	ND	ND	ND
	Diaphragm	4140	9370	ND	ND	ND	ND
	Intervertebral ligament(s)	9340	39900	ND	ND	ND	ND
	Heart (myocardium)	5430	13100	ND	ND	ND	ND
	Muscle (skeletal)	2000	6040	ND	ND	ND	ND
Respiratory Tract	Lung(s)	4510	9630	ND	ND	ND	ND
	Nasal Turbinates	1110	3200	ND	ND	ND	ND
Alimentary Canal	Cecum	6250	27900	17200	ND	ND	ND
	Cecum (contents)	158000	310000	92400	BLQ	ND	ND
	Large Intestine	2000	7350	471	ND	ND	ND
	Large Intestine (contents)	157000	332000	324000	BLQ	ND	ND
	Esophagus	2620	6110	ND	ND	ND	ND
	Esophagus (contents)	ND	1210	ND	ND	ND	ND
	Small Intestine	8550	26800	530	ND	ND	ND
	Small Intestine (contents)	449000	265000	15000	ND	ND	ND
	Stomach	2390	5800	BLQ	ND	ND	ND
	Stomach (contents)	2010000	101000	68900	BLQ	ND	ND
Ocular	Eye(s)	BLQ	527	ND	ND	ND	ND
	Eye (lens)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	Eye (uveal tract)	2620	3920	ND	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後4、8、及び24時間で各々7770、16200及び53.5 ng equivalents/g tissueであり、投与後72、168及び336時間では定量下限未満であった。

BLQ： 定量下限未満（<453 ng equivalents/g tissue）

ND： 検出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

Species/Strain: Rat/Long Evans		Number of animals (M/F): 4/Male (1 per time point)		Feeding condition: Fasted	
Vehicle/Formulation: 100% Polyethylene Glycol 400 / Solution		Method of administration: P.O.		Dose (mg/kg): 50	
Radionuclide: ¹⁴ C		Specific activity: 80.69 μCi/mg		Assay: Quantitative Whole-Body Autoradiography	
		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)			
Sampling Time (hr):		8	24	168	672
Tissue type	Tissue				
Vascular/Lymphatic	Arterial wall	4330	ND	ND	ND
	Blood	1200	ND	ND	ND
	Bone Marrow	702	ND	ND	ND
	Lymph Node	759	ND	ND	ND
	Spleen	842	ND	ND	ND
	Thymus	796	ND	ND	ND
Excretory/Metabolic	Bile	ND	ND	ND	ND
	Kidney Cortex	3950	ND	ND	ND
	Kidney Medulla	3090	ND	ND	ND
	Kidney(s)	3350	ND	ND	ND
	Liver	151000 ^A	3870	BLQ	ND
	Urinary Bladder	BLQ	ND	ND	ND
	Urine	BLQ	ND	ND	ND
Central Nervous System	Brain Cerebellum	BLQ	ND	ND	ND
	Brain Cerebrum	BLQ	ND	ND	ND
	Brain Medulla	BLQ	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後8、及び24時間で各々1830及び57.6 ng equivalents/g tissueであり、投与後168及び672時間では定量下限未満であった。

BLQ：定量下限未満（<453 ng equivalents/g tissue）

ND：検出せず

A：投与後8時間の肝臓中放射能は、投与量（50 mg/kg）の14%と推定される。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)			
Sampling Time (hr):		8	24	168	672
Tissue type	Tissue				
Central Nervous System (Cont.)	Brain Olfactory Lobe	BLQ	ND	ND	ND
	Spinal Cord	BLQ	ND	ND	ND
Endocrine	Adrenal Gland(s)	4090	ND	ND	ND
	Pituitary Gland	1020	ND	ND	ND
	Thyroid	1570	ND	ND	ND
Secretory	Exorbital Lacrimal Gland	1670	ND	ND	ND
	Intraorbital Lacrimal Gland	1470	ND	ND	ND
	Harderian Gland	1270	ND	ND	ND
	Pancreas	1220	ND	ND	ND
	Preputial Gland	663	ND	ND	ND
	Salivary Gland(s)	1400	ND	ND	ND
Fatty	Fat (abdominal)	BLQ	ND	ND	ND
	Fat (brown)	1540	ND	ND	ND
Dermal	Skin (non-pigmented)	BLQ	ND	ND	ND
	Skin (pigmented)	BLQ	ND	ND	ND
Reproductive	Bulbo-urethral Gland	1260	ND	ND	ND
	Epididymis	549	ND	ND	ND
	Prostate Gland	567	ND	ND	ND
	Seminal Vesicle(s)	BLQ	ND	ND	ND
	Testis(es)	BLQ	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後8、及び24時間で各々1830及び57.6 ng equivalents/g tissue であり、投与後168及び672時間では定量下限未満であった。

BLQ： 定量下限未満 (<453 ng equivalents/g tissue)

ND： 検出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 17 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.2: G-PK015]

		Grazoprevir Radioequivalents (ng/g tissue)			
Sampling Time (hr):		8	24	168	672
Tissue type	Tissue				
Skeletal/Muscular	Bone	BLQ	ND	ND	ND
	Diaphragm	1860	ND	ND	ND
	Heart (myocardium)	1640	ND	ND	ND
	Intervertebral ligament(s)	6990	ND	ND	ND
	Muscle (skeletal)	475	ND	ND	ND
Respiratory Tract	Lung(s)	1300	ND	ND	ND
	Nasal Turbinates	BLQ	ND	ND	ND
Alimentary Canal	Cecum	24400	6380	ND	ND
	Cecum (contents)	194000	123000	ND	ND
	Large Intestine	2010	9110	ND	ND
	Large Intestine (contents)	198000	115000	ND	ND
	Esophagus	BLQ	ND	ND	ND
	Esophagus (contents)	18600	BLQ	ND	ND
	Small Intestine	13300	BLQ	ND	ND
	Small Intestine (contents)	282000	27000	ND	ND
	Stomach	3820	BLQ	ND	ND
	Stomach (contents)	455000	37300	ND	ND
Ocular	Eye(s)	BLQ	ND	ND	ND
	Eye (lens)	BLQ	ND	ND	ND
	Eye (uveal tract)	494	ND	ND	ND

血漿中濃度を液体シンチレーション計数法で測定した結果、投与後8、及び24時間で各々1830及び57.6 ng equivalents/g tissue であり、投与後168及び672時間では定量下限未満であった。

BLQ： 定量下限未満 (<453 ng equivalents/g tissue)

ND： 検出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.6 薬物動態試験：分布：単回投与（Wistar Hannover Rats）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.4.1: G-PK002]

Species/Strain: Rat/Wistar Han Vehicle/Formulation: 100% Polyethylene Glycol 400 / Solution Radionuclide: ^3H	Number of animals (M/F): 1/Male Method of administration: P.O. Specific activity: 202.5 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$	Feeding condition: Fasted Dose (mg/kg): 5 Sampling Time: 4 hr Assay: Quantitative Whole-Body Autoradiography
Tissues/organs/matrix	Grazoprevir Radioequivalents (nmol-eq/g tissue) ^a	
Blood	0.23	
Brown Adipose Tissue	0.14	
Cecum Contents	95.01	
Harderian Gland	0.09	
Kidney	0.15	
Larger Intestinal Contents	2.96	
Liver	15.9	
Plasma	0.40	
Small Intestinal Contents	170.43	
Stomach Contents	130.09	
White Adipose Tissue	0.32	

a : オートラジオグラフィイメージの ^3H グラゾプレビル由来物質の組織中濃度を、対応する標準血液中濃度 (nCi/g) に対して定量した後、投与薬物の比活性 (nCi/g) を用いてグラゾプレビルの nmol-eq/g tissue に換算した。血液中濃度は、酸化後、液体シンチレーション計数法にて定量した。血漿中濃度は、液体シンチレーション計数法にて定量した。他の主要な組織は、いずれも定量下限未満 (<0.027 nmol-eq/g tissue) 又はこの検討時点において周囲組織から識別されなかったため定量しなかった。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 19 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.7 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（Rats）

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]
Number of animals/Gender	18/Male	18/Male	24/Male	24/Male	24/Male	24/Male
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.
Dose (mg/kg)	5	5	25	25	100	100
Sample	Plasma	Liver	Plasma	Liver	Plasma	Liver
Analyte	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Time (Mean ± SD)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)
1 hr	0.13 ± 0.12	11 ± 7	-	-	-	-
2 hr	0.13 ± 0.02	30 ± 9	6.4 ± 6.1	130 ± 43	-	-
4 hr	0.30 ± 0.39	23 ± 4	11.1 ± 6.4	134 ± 22	51.1 ± 13.1	236 ± 32
6 hr	0.05 ± 0.02	15 ± 1	14.3 ± 8.1	151 ± 31	-	-
8 hr	0.01 ± 0.01	12 ± 7	12.5 ± 8.9	144 ± 16	22.3 ± 11.6	208 ± 53
16 hr	-	-	0.028 ± 0.005	10.8 ± 3.2	1.59 ± 2.29	79 ± 45
24 hr	BLQ	0.2 ± 0.1	0.015 ± 0.019	4.1 ± 3.4	0.048 ± 0.033	17.2 ± 6.3
32 hr	-	-	0.003 *	1.5 ± 0.4	0.024 ± 0.022	10.3 ± 7.9
48 hr	-	-	BLQ	0.5 ± 0.2	0.007 *	3.1 ± 2.6
60 hr	-	-	-	-	BLQ	0.2 ± 0.1
72 hr	-	-	-	-	BLQ	0.7 ± 1.0

*： 2例の濃度の平均値のため、標準偏差は推定できず。

-： 試料採取せず

BLQ： 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 20 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.7 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（Rats）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]
Dose (mg/kg)	5	5	25	25	100	100
Sample	Plasma	Liver	Plasma	Liver	Plasma	Liver
PK parameters ^a (Mean):						
AUC _{0-∞} (μM·hr)	1.0	242	127	1697	352	3142
AUC _{0-∞} ratio (Liver /Plasma)		242		13		9
T _{1/2}	0.9	3.0	7.4	7.3	8.7	8.4

a： 各時間の血漿及び肝臓試料は同じ動物から採取した。AUC_{0-∞}は各時点につき3例のラットから得た肝臓及び血漿中濃度を基に算出しているため、標準偏差は推定できず。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.8 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（イヌ）

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Dog/Beagle
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	[資料4.2.2.3.1: G-PK005]
Number of animals/Gender	3/Male	3/Male	3/Male	3/Male
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.
Dose (mg/kg)	1	1	5	5
Sample	Plasma	Liver	Plasma	Liver
Analyte	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir	Grazoprevir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Time (Mean ± SD)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)	Concentrations (μM)
0.25 hr	0.02	-	-	-
0.5 hr	0.05 ± 0.02	-	-	-
1 hr	0.12 ± 0.03	-	8.09 ± 0.69	-
2 hr	0.23 ± 0.03	9.1 ± 0.7	8.33 ± 1.84	38.61 ± 5.01
4 hr	0.24 ± 0.06	-	5.95 ± 0.84	-
6 hr	0.24 ± 0.06	8.2 ± 1.0	4.31 ± 0.58	31.46 ± 3.68
8 hr	-	-	0.729 ± 0.139	-
24 hr	0.04 ± 0.01	1.4 ± 0.3	0.017 ± 0.004	1.04 ± 0.44
30 hr	-	-	0.012 ± 0.004	0.960 ± 0.51
48 hr	-	-	BLQ	0.176 ± 0.152
54 hr	-	-	BLQ	0.223 ± 0.220
72 hr	-	-	BLQ	0.061 *

- : 試料採取せず

* : 2例の濃度の平均値のため、標準偏差は推定できず。

BLQ : 定量下限未満

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.8 薬物動態試験：分布：肝臓、単回投与（イヌ）（続き）

被験物質：グラゾプレビル

Species/Strain	Dog/Beagle		Dog/Beagle	
Study Number	[資料4.2.2.2.1: G-PK001]		[資料4.2.2.3.1: G-PK005]	
Dose (mg/kg)	1		5	
Sample	Plasma		Liver	
PK Parameters (Mean ± SD):				
AUC _{0-∞} (μM·hr)	3.5 ± 0.6		44 ± 7	
AUC _{0-∞} ratio (Liver /Plasma)	36		8	
T _{1/2} (hr)	6.9 ± 0.4		9.4 ± 2.6	

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.9 薬物動態試験：蛋白結合（血漿蛋白、可逆的結合）

被験物質：グラゾプレビル

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Plasma, equilibrium dialysis and liquid scintillation counting (LSC); Analyte: [³ H]Grazoprevir			
Species	Conc. Tested (μM)	Fraction Unbound ^a	Study No.
Rat	0.1	0.016 ± 0.001	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
	1	0.016 ± 0.002	
	10	0.018 ± 0.002	
Rabbit	0.1	0.016 ± 0.003	[資料4.2.2.2.2: G-PK004]
	1	0.014 ± 0.002	
	10	0.013 ± 0.001	
Dog	0.1	0.008 ± 0.001	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
	1	0.009 ± 0.001	
	10	0.009 ± 0.000	
Human	0.1	0.012 ± 0.003	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
	1	0.013 ± 0.000	
	10	0.012 ± 0.001	

グラゾプレビルの血漿蛋白結合は0.1～10 μM の濃度範囲で薬物濃度に非依存的であり、非結合分率の平均値はラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿で各々0.016±0.002、0.014±0.001、0.009±0.001及び0.012±0.001であった。

a： 平均値±標準偏差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 24 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.10 薬物動態試験：蛋白結合（ヒト血清アルブミン、 α_1 -酸性糖蛋白、可逆的結合）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.6: G-PK021]

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Human serum albumin, α_1 -acid glycoprotein, equilibrium dialysis, and LC/MS/MS Analyte: Grazoprevir		
Protein	Conc. Tested (μ M)	Fraction Unbound ^a
Human Serum Albumin (40 mg/mL)	1	0.027 $\pm$ 0.002
	10	0.025 $\pm$ 0.002
α_1 -Acid Glycoprotein (1 mg/mL)	1	0.11 $\pm$ 0.01
	10	0.17 $\pm$ 0.02

グラゾプレビル1及び10 μ M におけるヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白への平均非結合分率は、各々0.026 $\pm$ 0.002及び0.14 $\pm$ 0.04であった。

a： 平均値 $\pm$ 標準偏差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 25 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.11 薬物動態試験：蛋白結合（腎及び肝機能障害者における可逆的結合）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.6: G-PK021]

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Human plasma (PN050), equilibrium dialysis and LC/MS/MS Analyte: Grazoprevir				
Sampling Time		Plasma at 3 hr post dosing on Day 10	Plasma at 8 hr post dosing on Day 10	Mean of 3 and 8 hr post-dose on Day 10
Subjects	Number of Subjects	Fraction Unbound ^b	Fraction Unbound ^b	Fraction Unbound ^b
Healthy Human	8	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.003
Severe Renally Impaired Patients	8	0.021 ± 0.005	0.022 ± 0.004	0.022 ± 0.004
Dialysis Patients with End Stage Renal Disease ^a	8	0.020 ± 0.005	0.016 ± 0.005	0.018 ± 0.005

血漿蛋白結合試験は、様々な濃度のグラゾプレビルを含むプール血漿（各群8例）にグラゾプレビルを添加し、最終濃度1 µM で実施した。

a： 投与後3時間の血漿は透析実施前に、投与後8時間の血漿は透析後3時間に採取した。

b： 平均値±標準偏差（プール血漿、3回繰り返し測定）

[資料4.2.2.3.3: G-PK020]

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Human plasma (PN013) from 8 subjects per group, equilibrium dialysis and LC/MS/MS Analyte: Grazoprevir		
Hepatic Impairment	Plasma from Hepatic Impaired Subjects Fraction Unbound ^a	Plasma from Healthy Matched Subjects Fraction Unbound ^a
Mild	0.017 ± 0.003	0.012 ± 0.002
Moderate	0.021 ± 0.010	0.017 ± 0.002
Severe	0.019 ± 0.003	0.017 ± 0.003

血漿蛋白結合試験は、臨床試験 PN013の投与前の個別血漿サンプル（各群8例）にグラゾプレビルを添加し、最終濃度1 µM で実施した。

a： 平均値±標準偏差（n=8、個別サンプル）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.12 薬物動態試験：血球移行性

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Blood and Plasma, liquid scintillation counting (LSC) Analyte: [³ H]Grazoprevir		
Species	Conc. Tested (μM)	Blood-to-plasma Ratio ^a
Rat	0.1	0.60 ± 0.03
	1	0.62 ± 0.04
	10	0.62 ± 0.03
Dog	0.1	0.46 ± 0.03
	1	0.46 ± 0.01
	10	0.49 ± 0.03
Human	0.1	0.68 ± 0.02
	1	0.69 ± 0.07
	10	0.63 ± 0.04

グラゾプレビルの血液／血漿中濃度比は0.1～10 μM の濃度範囲で薬物濃度に非依存的であり、血液／血漿中濃度比の平均値はラット、イヌ及びヒト血漿で各々0.61 ± 0.03、0.47 ± 0.03及び0.67 ± 0.04であった。

a： 平均値±標準偏差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 27 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.13 薬物動態試験：胎盤通過

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.5: G-TT 7040]、[資料4.2.2.3.4: G-TT 7420]

Species	Rat, rabbit			
Gestation day / Number of animals	20/12 rats; 12 rabbits (4 animals per time point)			
Vehicle/Formulation	100% polyethylene glycol 400 (rat), 0.15% polyvinylpyrrolidone/0.036% sodium deoxycholate/5% mannitol in deionized water (rabbit)			
Method of administration	P.O. (rat); IV ^a (rabbit)			
Dose (mg/kg/day)	200 b.i.d (rat); 100 (rabbit)			
Analyte	Grazoprevir			
Assay	LC/MS/MS			
Sample time (hr)	Mean Grazoprevir Concentration (μM) ^b			
	Rat, gestation day 20		Rabbit, gestation day 20	
	Maternal	Fetal	Maternal	Fetal
0.5	NA	NA	30.6 ± 2.58	0.391 ± 0.0752
2	28.3 ± 8.14	0.388 ± 0.110	8.43 ± 0.674	0.339 ± 0.0350
8	39.1 ± 5.96	1.04 ± 0.113	NA	NA
24	0.0707 ± 0.0275	0.0473 ± 0.0143	0.458 ± 0.0226	0.0310 ± 0.0110
Sample time (hr)	Plasma Ratio (Fetal/Maternal) ^c		Plasma Ratio (Fetal/Maternal) ^c	
0.5	NA		0.0128 ± 0.00244	
2	0.0138 ± 0.000587		0.0408 ± 0.00505	
8	0.0285 ± 0.00478		NA	
24	0.894 ± 0.278		0.0706 ± 0.0283	

a : 妊娠7～20日に1.5 mL/min の注入速度にて静脈内投与した。

b : 平均値±標準誤差 (n=4)

c : 個々の母動物と対応する胎児の血漿中濃度比の平均値±標準誤差

b.i.d. : 1日2回投与；2回目の投与は初回投与後少なくとも6時間後とした。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 28 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.14 薬物動態試験：代謝：In Vivo

被験物質：グラゾプレビル

Species:	Rat (BDC)	Rat (BDC)	Rabbit	Dog (BDC)	Dog (BDC)	Human	Human
Study Number	[資料4.2.2.4.1: G-PK002]	[資料4.2.2.4.1: G-PK002]	[資料4.2.2.2.2: G-PK004]	[資料4.2.2.4.4: G-PK018]	[資料4.2.2.4.4: G-PK018]	[資料4.2.2.4.2: G-PK009] [資料4.2.2.5.1: G-PK016]	[資料4.2.2.4.2: G-PK009]
Number of Subjects / Gender	3/Male	3/Male	3/Female	3/Male	3/Male	6/Male	6/Male
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle / Formulation	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; Suspension	100% Polyethylene Glycol 400; Solution	100% Polyethylene Glycol 200; Solution	100% Polyethylene Glycol 400; liquid-filled capsules	Tablet
Method of Administration	P.O.	P.O.	P.O.	P.O.	IV	P.O.	P.O.
Dose	5 mg/kg	20 mg/kg	200 mg/kg	1 mg/kg	0.5 mg/kg	186-188 mg	1000 mg
Radionuclide	³ H	³ H	³ H	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	NA
Radioactivity per Subject	~50 µCi	~50 µCi	~500 µCi/kg	~100 µCi	~65-74 µCi	195-197 µCi	NA
Biological Samples	Bile, Feces, Urine	Plasma	Plasma, Urine, Feces	Plasma, Bile, Feces, Urine	Plasma, Bile, Feces, Urine	Plasma, Urine, Feces	Plasma
Analytes	Grazoprevir and metabolites						
Assays	LC with radiometric detection, LC/MS/MS						

BDC：胆管カニューレ処置した動物

LC：液体クロマトグラフィ

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 29 -

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.14 薬物動態試験：代謝：In Vivo（続き）

被験物質：グラゾプレビル

Species	Dose (mg/kg)/ Route	Sample	Sampling Period	Percent of Dose or Occurrence												Parent	Total
				M1a	M3	M4a	M4b	M5	M7a	M8	M9	M10	M11a/b	M14			
Rat	5/P.O.	Urine	0-72 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Rat ^a	5/P.O.	Bile	0-72 hr	2.2 ± 0.5	5.1 ± 0.8	1.3 ± 0.7	2.4 ± 0.7	2.7 ± 1.3	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.2	<0.5 ⁱ	-	-	-	11.6 ± 2.0	27.1 ± 1.4	
Rat	5/P.O.	Feces	0-72 hr	-	6.2 ± 4.4	1.7 ± 1.5	2.7 ± 2.3	2.9 ± 3.1	-	-	-	-	-	-	59.3 ± 0.9	72.8 ± 4.0	
Rat	20/P.O.	Plasma	6 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Rabbit ^b	200/P.O.	Feces	0-72 hr	2.0 ±0.7	2.6 ± 0.5	8.2 ± 5.5		2.6 ^c	2.0 ± 1.1	-	1.4 ± 0.9	-	-	-	60.2 ± 20.3	77.3 ^d ± 14.3	
Rabbit	200/P.O.	Plasma	0-6 hr	-	+	+		-	+	-	-	-	-	-	+	NA	
Dog ^{b,e}	1/P.O.	Bile	4-24 hr	-	1.47	7.11		-	1.85	-	-	-	-	-	9.41	19.84	
Dog ^f	1/P.O.	Feces	0-24 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	7.39	-	-	17.92	25.31	
Dog	1/P.O.	Plasma	4-24 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Dog ^{g,j}	0.5/IV	Bile	0-72 hr	-	6.3	29.06		-	10.36	-	-	-	-	-	37.13	82.85	
Dog ^g	0.5/IV	Plasma	1 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Human ^h	200 mg	Feces	0-168 hr	-	-	4.86		-	4.27	-	-	34.61	8.15	4.46	45.65	102	
Human	200 mg	Plasma	3 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Human	200 mg	Plasma	8 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Human ^k	1000 mg	Plasma	Day 1 (0-24 hr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	
Human ^k	1000 mg	Plasma	Day 10 (0-24 hr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NA	

ラット及びウサギの排泄物試料の分析には、各個体で採取期間ごとにプールしたものを用いた。個々の代謝物の排泄率（%）は、平均値±標準偏差（3回繰り返し測定）で示した。イヌ及びヒトについては、個々の代謝物の排泄率（%）は、個体及び採取期間横断的にプールしたものをまとめてひとつの試料とし、平均値として表示した。

a： 各ラットの胆汁は採取期間ごとにプールし分析した（ラット1及びラット2：0～72時間、ラット3：0～48時間）。ラット3の48～72時間の胆汁は、放射能の回収が低かったため除外した。

b： 尿では放射能の回収が非常に低く、放射能は検出されなかった。

c： 1例の値

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.14 薬物動態試験：代謝：In Vivo（続き）

被験物質：グラゾプレビル

- d： M5は1例でしか検出されなかったため（脚注 c 参照）、投与量に対する割合（％）は、各個体から得られた回収率の平均値（n=3）を表中の各代謝物の総量で除して算出した。
- e： 投与量に対する割合（％）は、イヌ全3例のプール胆汁（投与後4～24時間）から得た1試料に基づき算出した。
- f： 投与量に対する割合（％）は、イヌ2例から得られた糞の1試料（投与後0～24時間）に基づき算出した。残る1例の投与後24～48時間に得られた糞においても同様の値が得られている。
- g： 静脈内投与後72時間までのイヌ尿の放射能回収率は非常に低かったため（投与量の約0.5％）、放射能の分析はできなかった。投与後72時間のイヌ糞の放射能回収率（約20％）は非常に低かったため、信頼性を持った放射能の定量ができなかった。
- h： 投与後168時間までのヒト尿における放射能回収率が非常に低かったため（投与量の0.3％未満）、放射能は定量できなかった。
- i： M9は投与後0～24時間の胆汁のみで検出され、投与後0～72時間のプール胆汁試料中からは検出されなかった。よって、投与量に対する放射能の割合のみ推定した。
- j： イヌ2例のプール胆汁試料を用いて代謝プロファイルを検討した。投与後0～48時間のイヌ胆汁試料の放射能回収率平均値は82.85％であった。もう1例のイヌ（イヌ3）の投与後0～48時間の胆汁試料は、放射能回収率が約50％と低かったため、プール試料には含めなかった。イヌ全3例の投与後0～72時間のプール胆汁の場合、放射能回収率は74.27％であった。
- k： ヒト血漿試料は、day 1及び day 10の各時点での6例のプール血漿を用いた。
- ＋： 放射能検出あり
- －： 放射能検出なし
- NA： 該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 31 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.15 薬物動態試験：代謝：In Vitro

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]、[資料4.2.2.2.2: G-PK004]、[資料4.2.2.4.2: G-PK009]、[資料4.2.2.4.5: G-PK026]

Type of Study: Experiments were conducted to evaluate the metabolism of grazoprevir in incubations with liver preparations and human fecal homogenate.													
Study Systems: Liver microsomes (1 mg/mL), hepatocytes (2,million cells/mL), human fecal homogenate													
Assays: Liquid scintillation counting; LC/MS/MS													
Analyte: [³ H]Grazoprevir, [¹⁴ C]grazoprevir													
Species	Sample/ concentration	Observed metabolites											Parent
		M1a	M3	M4a	M4b	M5	M7a	M8	M9	M10	M11a/b	M14	
Mouse	Liver microsomes ^a	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
Rat	Liver microsomes ^a	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Rabbit	Liver microsomes ^a	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
Dog	Liver microsomes ^a	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Human	Liver microsomes ^a	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Rat	Hepatocytes ^b	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Rabbit	Hepatocytes ^b	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Dog	Hepatocytes ^b	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Human	Hepatocytes ^b	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Human	Fecal homogenate	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Human ^c	Liver microsomes and fecal homogenate	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+

a : 10 μM [³H]グラゾプレビル（ラット、ウサギ、イヌ、ヒト）又は[¹⁴C]グラゾプレビル（マウス）存在下で、肝ミクロソームを90分間インキュベーションした。

b : 10 μM [³H]グラゾプレビル（ラット、ウサギ、イヌ、ヒト）存在下で、肝細胞を4時間インキュベーションした。

c : まず、ヒト肝ミクロソームを[¹⁴C]グラゾプレビルとインキュベーションした結果、M4a 及び M4b が生成した。次に肝ミクロソームインキュベーション試料を遠心分離し、得られた上清をヒト糞ホモジネートとインキュベーションした結果、更に M10、M11a 及び M11b が生成した。

+: 放射能検出あり

-: 放射能検出なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 32 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.16 薬物動態試験：蛋白結合（共有結合）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.4.3: G-PK012]

Type of study: Determination of covalent protein binding of grazoprevir (at 10 μ M) in liver microsomal and hepatocyte incubations							
Method: liquid scintillation counting							
Tabulated results: Covalent protein binding (pmol equivalent/mg protein) of grazoprevir in liver microsomes and hepatocytes derived from various species							
Compound	Radionuclide	Liver preparation	Concentration	Species	Co-factor or time point	Additive	Covalent protein binding pmol equivalent/mg protein ^a
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	rat	-	-	4.3 $\pm$ 0.2
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	rat	NADPH	-	96.8 $\pm$ 1.4
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	rat	NADPH	5 mM glutathione	41 $\pm$ 3
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	human	-	-	2.1 $\pm$ 0.3
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	human	NADPH	-	354 $\pm$ 46
Grazoprevir	³ H	microsomes	1 mg/mL	human	NADPH	5 mM glutathione	202 $\pm$ 11
Grazoprevir	¹⁴ C	microsomes	1 mg/mL	human	-	-	48 $\pm$ 4
Grazoprevir	¹⁴ C	microsomes	1 mg/mL	human	NADPH	-	451 $\pm$ 48
Grazoprevir	¹⁴ C	microsomes	1 mg/mL	human	NADPH	25 μ M ritonavir	53 $\pm$ 13
Grazoprevir	¹⁴ C	hepatocytes	2 million cells/mL	human	0 hr	-	0 $\pm$ 0
Grazoprevir	¹⁴ C	hepatocytes	2 million cells/mL	human	4 hr	-	53 $\pm$ 2

グラゾプレビルは NADPH 依存的代謝活性により、共有結合の蛋白修飾を起こし得る化学的反応性代謝物を産生する。ヒト及びラット肝ミクロソームにおいて、それぞれ蛋白共有結合は約350～450及び100 pmol 等量／mg 蛋白であった。CYP3A 阻害薬であるリトナビルの添加により、ヒト肝ミクロソームにおけるグラゾプレビルの蛋白共有結合量は低下した。ヒト肝細胞を用いた場合、蛋白共有結合量は53 pmol 等量／mg 蛋白であった。

- : 添加なし

a : 平均値±標準偏差 (n=3)

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.17 薬物動態試験：マスバランス

被験物質：グラゾプレビル

Species	Rat (BDC)	Rabbit	Dog (BDC)	Dog (BDC)	Human
Study Number	[資料4.2.2.4.1: G-PK002]	[資料4.2.2.2.2: G-PK004]	[資料4.2.2.4.4: G-PK018]	[資料4.2.2.4.4: G-PK018]	[資料4.2.2.5.1: G-PK016]
Number of animals/Gender	3/Male	3/Female	3/Male	3/Male	6/Male
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; Suspension	100% Polyethylene Glycol 400 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 200 ; Solution	100% Polyethylene Glycol 400 ; liquid filled capsules
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.	IV	P.O.
Dose	5 mg/kg	200 mg/kg	1 mg/kg	0.5 mg/kg	186 - 188 mg
Radionuclide	³ H	³ H	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C
Radioactivity per subject	~50 µCi	~500 µCi/kg	~100 µCi	~65-74 µCi	195 - 197 µCi
Analyte	Total radioactivity				
Assay	Combustion and/or liquid scintillation counting				
Collection Period (hr)	0-72	0-72	0-72	0-72	0-576
Excretion Route	Percent of Administered Dose ^a				
Bile	28.1 ± 2.2	NS	27.8 ± 9.0	74.3 ± 20.8	NA
Urine	0.4 ± 0.3	1.4 ± 2.3	3.4 ± 2.8	0.5 ^b ± 0.3	0.29 ± 0.07
Feces	72.8 ± 4.0	77.3 ± 14.2	26.4 ± 10.5	22.0 ± 24.5	110 ± 16
Subtotal feces (0-168 hr)	NA	NA	NA	NA	102 ± 18.4
Total	101.3 ± 5.3	78.7 ± 12.1	57.5 ± 9.5	97 ± 5	110 ± 16

a : 平均値±標準偏差 [n=3 (ラット、ウサギ、イヌ)、n=6 (ヒト)]

b : 尿には投与72時間後のケージ洗浄液を含む

NA : 該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.18 薬物動態試験：乳汁排泄

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.3.5: G-TT 7040]

Species	Rat					
Lactation day / Number of animals	14/4 rats (25 mg/kg/day) group, 8 rats (100 and 200 mg/kg/day) groups					
Vehicle/Formulation	100% polyethylene glycol 400					
Method of administration	P.O.					
Dose (mg/kg/day)	25 qd, 100 qd, 200 (b.i.d.)					
Analyte	Grazoprevir					
Assay	LC/MS/MS					
	Mean Grazoprevir Concentration (μM)					
Dose	25 mg/kg/day		100 mg/kg/day		200 mg/kg b.i.d.	
Sample time (hr)	Maternal plasma ^a	Maternal milk ^b	Maternal plasma ^a	Maternal milk ^b	Maternal plasma ^a	Maternal milk ^b
2	3.81 ± 1.38	1.70 ± 0.591	38.6 ± 5.65	31.7 ± 4.64	22.3 ± 10.2	17.8 ± 8.80
8	NC	NC	7.63 ± 3.24	4.66 ± 2.16	56.6 ± 4.82	40.0 ± 3.45
Sample time (hr)	Ratio (milk/plasma) ^c					
2	0.538 ± 0.0941		0.836 ± 0.0548		0.866 ± 0.127	
8	NC		0.546 ± 0.0524		0.675 ± 0.0288	

グラゾプレビルは妊娠6日から授乳14日まで投与した。

a： 平均値±標準誤差（n=4～5）

b： 平均値±標準誤差（n=3～5）

c： 個々の乳汁中濃度を対応する母動物血漿中濃度で除した値、平均値±標準誤差（n=3～5）

qd： 1日1回投与

b.i.d.： 1日2回投与；2回目の投与は初回投与後少なくとも6時間後に実施

NC： 算出せず、採血せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 35 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.19 薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Study System: In vitro Test Systems: Cytochrome P450 isoform selective monoclonal antibodies in human liver microsomes at 37°C for 60 min in the presence of a NADPH- regenerating system Compounds: [³ H]Grazoprevir (10 µM) Assays: LC/MS/MS with radiochemical detection				
Metabolite #	Human Liver Microsomes	Anti-CYP2C	Anti-CYP2D6	Anti-CYP3A
M1a	+	+	+	-
M3	+	+	+	-
M4a	+	+	+	+
M4b	+	+	+	+
M5	+	+	+	-
M7	+	+	+	-

[³H]グラゾプレビルを添加する前に、ヒト肝ミクロソームと選択的 CYP 抗体を37°C で60分間プレインキュベーションした。その結果、グラゾプレビルの酸化的代謝は主に CYP3A を介するものであることが示された。

-: 検出せず（定量できず）

+: 液体クロマトグラフィ-ラジオクロマトグラムのパーク及びマススペクトルのシグナル（定性的）が検出された。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 36 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.19 薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.6: G-PK011]

Study System: In vitro						
Test Systems: Isoform specific human recombinant cytochrome P450 (hrCYP) at 37°C for 60 min in the presence of a NADPH- regenerating system						
Compounds: [¹⁴ C]Grazoprevir at 10 µM and 100 µM						
Assays: LC/MS/MS with radiochemical detection						
Metabolite #	Human Liver Microsomes	hrCYP1A2	hrCYP2C9	hrCYP2C19	hrCYP2D6	hrCYP3A4
M1a	+	-	-	-	-	+
M3	+	-	-	-	+	+
M4a	+	-	-	-	-	+
M4b	+	-	-	-	-	+
M7	+	-	-	-	-	+

-： 検出せず（定量できず）

+： 液体クロマトグラフィ-ラジオクロマトグラムのピーク及びマススペクトルのシグナル（定性的）が検出された。

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.20 薬物動態試験：代謝：CYP3A4による代謝物の動態

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.12: G-PK023]

Study System: In vitro		
Test Systems: Human recombinant CYP3A4 (50 pmol/mL) incubated with grazoprevir (0.1-50 μ M) at 37°C for 30 min in the presence of NADPH		
Assay: LC/MS/MS		
Metabolite	K_m^a (μ M)	V_{max}^a (pmol/min/pmol P450)
M4a	3.23 ± 0.33	0.21 ± 0.01
M4b	3.50 ± 0.28	0.18 ± 0.00

M4a 及び M4b（グラゾプレビルの一酸化代謝物）は Michaelis-Menten 速度式で表される。 K_m 及び V_{max} の推定値は非線形回帰分析により求めた。

a： 平均値±標準誤差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.21 薬物動態試験：肝細胞への取り込み（ラット、ヒト）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Study System: In vitro				
Type of Study: Experiments were conducted to qualitatively evaluate the uptake of grazoprevir into rat and human hepatocytes.				
Assays: Liquid scintillation counting				
Hepatocytes	Substrate	Inhibitor	Temperature	Reduction of Uptake ^a
Rat	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	37°C	NA
Rat	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	4°C	+
Human	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	37°C	NA
Human	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	4°C	+
Human	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	Bromosulphophthalein (100 µM)	37°C	+

グラゾプレビルは、ラット及びヒト肝細胞のいずれにおいても時間及び温度依存的な取り込みを示し、その取り込みは4°Cに比べて37°Cで顕著であった。37°Cでの取り込み作用は、複数の肝取り込みトランスポーターに対する阻害薬であるスルホプロモフタレインにより阻害された。このことから、ヒト及びラット肝細胞へのグラゾプレビルの分布に取り込みトランスポーターが関与していることが示唆される。アッセイの機能性は、陽性対照薬（エストラジオール-17β-グルクロニド：1 µM）のヒト及びラット肝細胞への取り込みが正常範囲に入ることを確認した。

a： 阻害薬非存在下で肝細胞を37°Cでインキュベーションした場合との比較

NA： 該当なし

＋： 取り込みの低下が認められた

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 39 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.22 薬物動態試験：ラット P-gp 及び Oatp1b2を介した輸送

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Study System: In vitro				
Type of Study: Experiments were conducted to qualitatively evaluate grazoprevir as a substrate of rat Mdr1a P-glycoprotein (P-gp) and Oatp1b2.				
Assays: Liquid scintillation counting				
Transporter	Cell Lines	Substrate	Inhibitor	Substrate of Transporter
Rat Mdr1a P-gp	LLC-PK1-Rat Mdr1a	[³ H]Grazoprevir (0.5 µM)	NA	yes
Rat Mdr1a P-gp	LLC-PK1-Rat Mdr1a	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	yes
Rat Oatp1b2	MDCKII- Rat Oatp1b2	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA	yes
Rat Oatp1b2	MDCKII- Rat Oatp1b2	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	Bromosulphophthalein (100 µM)	yes

アッセイの機能性は、Mdr1a P-gp 及び Oatp1b2の陽性対照薬（各々ベラパミル：1 µM 及びエストラジオール-17β-グルクロニド：1 µM）を用いた場合に正常範囲に入ることで確認した。グラゾプレビルは Mdr1a P-gp、及び Oatp1b2の基質である。スルホプロモフタレイン（100 µM）存在下で、Oatp1b2を遺伝子導入したラット MDCKII 細胞へのグラゾプレビルの取り込みは低下した。

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 40 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.23 薬物動態試験：ヒト P-gp、BCRP、OATP1B1及び OATP1B3を介した輸送

被験物質：グラゾプレビル

Study System: In vitro				
Type of Study: Experiments were conducted to qualitatively evaluate grazoprevir as a substrate of human MDR1 P-glycoprotein (P-gp), BCRP, OATP1B1, and OATP1B3.				
Assays: Liquid scintillation counting				
Transporter	Cell Lines	Substrate	Substrate of Transporter	Study No.
MDR1 P-gp	LLC-PK1-MDR1	[³ H]Grazoprevir (0.5 µM)	yes	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
MDR1 P-gp	LLC-PK1-MDR1	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	yes	
BCRP	MDCKII-BCRP	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	NA ^a	[資料4.2.2.6.2: G-PK006]
OATP1B1	MDCKII-OATP1B1	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	yes	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
OATP1B3	MDCKII-OATP1B3	[³ H]Grazoprevir (1 µM)	yes	

グラゾプレビル0.5及び1 µMにおける双方向性の経細胞輸送試験の結果、ヒト MDR1 P-gp を遺伝子導入した LLC-PK1細胞における Flux Ratio (B-A/A-B 比) は各々 76.5及び101.8であり、Net Flux Ratio (非発現 LLC-PK1細胞での Flux Ratio に対する比) は各々1.5及び1.1であった。OATP1B1又は OATP1B3のいずれかを遺伝子導入した MDCKII 細胞へのグラゾプレビルの取り込みは非発現 MDCKII 細胞と比べて増加したことから、グラゾプレビルは OATP1B1及び OATP1B3の基質であることが示唆された。グラゾプレビルは対照である LLC-PK1細胞への高い受動的膜透過性を示した (見かけの透過係数: 19×10^{-6} cm/s)。アッセイの機能性は、MDR1 P-gp、BCRP、OATP1B1、及び OATP1B3の陽性対照薬 (各々ベラパミル: 1 µM、プラゾシン: 5 µM、エストラジオール-17β-グルクロニド: 1 µM、及びコレシストキニン オクタペプチド CCK8: 4 nM) を用いた場合に正常範囲に入ることを確認した。

a: 宿主細胞株の内因性輸送のため、BCRP を遺伝子導入した MDCKII 細胞における Flux ratio (B-A/A-B 比) の算出、及びグラゾプレビルが BCRP の基質であるか否かを判断することはできなかった。

NA: 該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 41 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.24 薬物動態試験：HEK293細胞に一過性に発現させたヒト OATP1B1又は OATP1B3を介した本薬の取り込み

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.15: G-PK027]

Study System: In vitro		
Test Systems: HEK293 cells and HEK293 cells transiently transfected with human OATP1B1 (HEK293-OATP1B1) or OATP1B3 (HEK293-OATP1B3) were plated at a density of 0.2×10^6 cells/well and incubated with grazoprevir (0.025-2.0 μM) at 37°C for 1 min; each incubation was carried out in triplicates.		
Assay: Liquid scintillation counting (LCS)		
Transporter	K_m^a (μM)	V_{max}^a (pmol/min/ 10^6 cells)
OATP1B1	0.43 ± 0.11	14.3 ± 1.4
OATP1B3	0.18 ± 0.07	11.5 ± 1.2

HEK293-OATP1B1及びHEK293-OATP1B3細胞へのグラゾプレビルの取り込みは濃度依存的であり、対照の非発現 HEK293細胞の場合と比べて高かった。 K_m 及び V_{max} の推定値は非線形回帰分析により求めた。OATP1B1及びOATP1B3の陽性対照薬として、各々 $[^3\text{H}]$ エストラジオール-17 β -グルクロニド：1 μM 、及び $[^3\text{H}]$ コレシトキニンオクタペプチド $[^3\text{H}]$ CCK8：5 nM）を用いた。OATP1Bの阻害薬であるスルホプロモフタレイン（100 μM ）存在下では、いずれの陽性対照薬の取り込みも完全に阻害された。

a： 平均値±標準誤差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 42 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.25 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450に対する可逆的阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.7: G-PK013]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of grazoprevir to act as an inhibitor of human liver microsomal cytochrome P450 (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) activities.

Test system: Human liver microsomes

Assay: LC/MS/MS

Reaction	CYP	Positive Control Inhibitor	IC ₅₀ (μM) ^a	
			Grazoprevir ^b	Positive Control
Phenacetin <i>O</i> -deethylation	CYP1A2	α-Naphthoflavone	>100 (21 ± 9.2%)	0.0066
Bupropion hydroxylation	CYP2B6	Ticlopidine	66	0.72
Amodiaquine <i>N</i> -deethylation	CYP2C8	Montelukast	6.1	0.15
Diclofenac 4'-hydroxylation	CYP2C9	Sulfaphenazole	>100 (48 ± 3.5%)	0.82
(<i>S</i>)-Mephenytoin 4'-hydroxylation	CYP2C19	Benzylrivanol	>100 (46 ± 0.45%)	0.20
Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	CYP2D6	Quinidine	>100 (49 ± 0.63%)	0.091
Midazolam 1'-hydroxylation	CYP3A4	Ketoconazole	73	0.029
Testosterone 6β-hydroxylation	CYP3A4	Ketoconazole	>100 (20 ± 7.3%)	0.028

ヒト肝ミクロソームの7種類の CYP に対するグラゾプレビルの阻害能について、基質の見かけの K_m 値に近い濃度でインキュベーションすることにより検討した。陽性対照の阻害薬 ($IC_{50} < 1 \mu M$) と比較して、グラゾプレビルは CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、及び CYP2D6 に対する阻害を示さなかった ($IC_{50} > 100 \mu M$)。グラゾプレビルは CYP2B6 ($IC_{50} = 66 \mu M$) 及び CYP3A ($IC_{50} = 73 \mu M$ 、基質：ミダゾラム) に対しては弱い可逆的な阻害作用を示し、CYP2C8 ($IC_{50} = 6.1 \mu M$) に対しては中程度の可逆的な阻害作用を示した。

a： 溶媒単独時と比較して酵素活性を50%まで低下させるのに必要な阻害薬又はグラゾプレビル濃度

b： カッコ内は、100 μM における阻害率の平均値±標準偏差 (n=3)

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.26 薬物動態試験：ヒト CYP3A に対する時間依存的阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of grazoprevir to inhibit CYP3A in a time-dependent manner in human liver microsomes

Method: Pooled human liver microsomes (1 mg/mL) were pre-incubated at 37°C with 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, and 50 µM of grazoprevir in 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) with 1 mM EDTA, 6 mM magnesium chloride, and an NADPH-generating system for a duration ranging from 5 to 30 min. The incubation mixtures were diluted 10-fold with the same buffer containing 250 µM testosterone and an NADPH-generating system. The incubation was continued for an additional 10 min to monitor the extent of testosterone 6β-hydroxylation. The first order rate constants (k_{obs}) for inactivation at the various concentrations were calculated from the negative slope of the lines by linear regression analysis of the natural logarithm of the remaining activity as a function of time.

Tabulated results: time-dependent inhibition of human cytochrome P450 3A by grazoprevir

Grazoprevir concentration (µM)	k_{obs} (min ⁻¹)
0	0.0004
0.78	0.003
1.56	0.006
3.13	0.007
6.25	0.006
12.5	0.003
25	0.007
50	0.007

陽性対照薬ミフェプリストンの結果（10 µM、30分間プレインキュベーションで>80%阻害； k_{obs} =0.042 min⁻¹）と比較して、グラゾプレビルは6β-ヒドロキシテストステロンに対してプレインキュベーション依存的な弱い阻害（50 µM、30分間プレインキュベーションで20%阻害）を示した。溶媒単独のとき k_{obs} は0.0004 min⁻¹であった。

2.6.5.A.27 薬物動態試験：ヒト CYP2C8に対する時間依存的阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.14: G-PK025]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of grazoprevir to inhibit CYP2C8 in a time-dependent manner in human liver microsomes

Method: Pooled human liver microsomes (1 mg/mL) were pre-incubated at 37°C with 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, and 50 µM of grazoprevir in 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) with 1 mM EDTA, 6 mM magnesium chloride, and an NADPH-generating system for a duration ranging from 0 to 30 min. The incubation mixtures were diluted 10-fold with the same buffer containing 20 µM amodiaquine and an NADPH-generating system. The incubation was continued for an additional 4 min to monitor the extent of Amodiaquine N-deethylation. The first order rate constants (k_{obs}) for inactivation at the various concentrations were calculated from the negative slope of the lines by linear regression analysis of the natural logarithm of the remaining activity as a function of time.

Tabulated results: time-dependent inhibition of human cytochrome P450 2C8 by grazoprevir

Concentration (µM)	Grazoprevir k_{obs} (min ⁻¹)	Gemfibrozil glucuronide k_{obs} (min ⁻¹)
0	0.0095	0.0109
0.78	0.0072	NA
1.56	0.0095	0.0169
3.13	0.0077	0.0185
6.25	0.0075	0.0342
12.5	0.0010	0.0516
25	0.0030	0.0872
50	0.0020	0.0872
100	NA	0.0894

陽性対照薬のゲムフィブロジルグルクロニドの結果 ($K_i = 11.1 \pm 2.96$ µM ; $k_{inact} = 0.106 \pm 0.009$ min⁻¹) と比較して、グラゾプレビルは N-脱エチルアモジアキンに対してプレインキュベーション非依存的な阻害を示さなかった。

NA： 該当なし

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.28 薬物動態試験：ヒト UGT1A1に対する時間阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.4: G-PK008]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of grazoprevir to act as an inhibitor of human UGT1A1 activity.
Test system: human liver microsomes
Methods: Pooled human liver microsomes were incubated with 20 μ M estradiol, a substrate for UGT1A1 for 20 min. Estradiol glucuronide was quantified in the absence (solvent control) and presence of increasing concentrations (0.78 to 100 μ M) of either grazoprevir or nicardipine.
Assay: LC/MS/MS

Reaction	Enzyme	Positive Control Inhibitor	IC ₅₀ (μ M) ^a	
			Grazoprevir	Positive Control
Estradiol 3-glucuronidation	UGT1A1	Nicardipine	54 $\pm$ 8.4	2.7 $\pm$ 0.21

陽性対照薬のニカルジピンの結果（IC₅₀ = 2.7 μ M）と比較して、グラゾプレビルは UGT1A1 に対して阻害を示さなかった（IC₅₀ = 54 μ M）。

a： 溶媒単独時と比較して酵素活性を50%まで低下させるのに必要な阻害薬濃度。

平均値 $\pm$ 標準偏差（n=3）。

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.29 薬物動態試験：ヒト P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3及び OCT2
を介した輸送に対する阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

Study system: In vitro Test systems: Experiments were conducted to evaluate grazoprevir as an inhibitor of human P-glycoprotein (MDR1), BCRP, BSEP, OATP1B1, OATP1B3, MRP2, MRP3 MRP4, OAT1, OAT3, and OCT2. Methods: LLC cells transiently transfected with human P-glycoprotein (MDR1), membrane vesicles (<i>Sf9</i>) containing BCRP, BSEP, MRP2, MRP3, or MRP4, and MDCKII cells stably transfected with OATP1B1 (MDCKII-OATP1B1), OATP1B3 (MDCKII-OATP1B3), OAT1 (MDCKII-OAT1), or OAT3 (MDCKII-OAT3), or CHO-K1 cells stably transfected with OCT2 were incubated with transporter selective substrates in the presence of various concentrations of grazoprevir. Assays: Liquid scintillation counting					
Transporter	Cell Lines	Substrate	IC ₅₀ (μM) ^a	Positive Control Inhibitor	Study No.
P-glycoprotein	LLC-PK1-MDR1	[³ H]Digoxin (0.1 μM)	>100	Not applied	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
BCRP	<i>Sf9</i> -BCRP	[³ H]Methotrexate (10 μM)	12.5 ± 2.8	Ko143 (2 μM)	[資料4.2.2.6.5: G-PK010]
OATP1B1	MDCKII-OATP1B1	[³ H]Pitavastatin (0.1 μM)	0.7 ± 0.1	Not applied	[資料4.2.2.6.1: G-PK003]
OATP1B3	MDCKII-OATP1B3	[³ H]Bromosulphophthalein (0.1 μM)	1.1 ± 0.3	Not applied	
BSEP	<i>Sf9</i> -BSEP	[³ H]Taurocholic Acid (1 μM)	0.15 ± 0.02	Atorvastatin (100 μM)	[資料4.2.2.6.3: G-PK007]
MRP2	<i>Sf9</i> -MRP2	[¹⁴ C]Ethacrynic Acid Glutathione Conjugate (1 μM)	2.5 ± 0.5	Bromosulphophthalein (100 μM)	
MRP3	<i>Sf9</i> -MRP3	[³ H]Estradiol-17β-D glucuronide (1 μM)	3.8 ± 0.5	Bromosulphophthalein (100 μM)	[資料4.2.2.6.9: G-PK017]
MRP4	<i>Sf9</i> -MRP4	[³ H]Folic acid (FA) (10 μM)	1.0 ± 0.1	Bromosulphophthalein (100 μM)	
OAT1	MDCKII-OAT1	[³ H]cidofovir (1 μM)	15 ± 2	Probenecid (1 mM)	[資料4.2.2.6.29: G-PK030]
OAT3	MDCKII-OAT3	[³ H]estrone-3-sulfate (0.1 and 1 μM)	>50	Probenecid (1 mM)	
OCT2	CHO-K1-OCT2	[¹⁴ C]metformin (10 μM)	>50	Quinidine (100 μM)	

グラゾプレビル濃度1～100 μM のとき、P-gp を介するジゴキシンの輸送は40%未満であった。アッセイの機能性は、BCRP 及び BSEP の陽性対照薬（各々 Ko143：2 μM 及びアトルバスタチン：100 μM）を用いた場合に正常範囲に入ることを確認した。MRP2、MRP3、および MRP4の陽性対照阻害薬としてスルホプロモフタレイン（100 μM）を用いた。

a： 平均値±標準偏差（n=3又は6）

2.6.5.A.30 薬物動態試験：ヒト肝細胞（HepatoPac™）におけるタウロコール酸の胆汁排泄に対する阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.13: G-PK024]

Study system: In vitro				
Test systems: human hepatocytes (HepatoPac™, Hepregen Corporation)				
Methods: The transport of taurocholate was measured in human HepatoPac™ co-cultures in the presence and absence of varying concentrations of grazoprevir or cyclosporine A. The potential for grazoprevir to inhibit the intrinsic in vitro biliary clearance (in vitro CL _{biliary}) and the biliary excretion index (BEI) of taurocholic acid (TCA) transport in human HepatoPac™, a micropatterned hepatocyte co-culture system, was studied. The in vitro CL _{biliary} represents both uptake of TCA across the sinusoidal membrane into the hepatocyte as well as its efflux across the canalicular membrane into the bile canaliculi. The BEI represents the percent of accumulated TCA that resides in the bile canaliculi (ie. efflux cross the canalicular membrane). Inhibition of in vitro CL _{biliary} with no change in BEI suggests that the uptake of TCA is inhibited by the test compound, while inhibition of both in vitro CL _{biliary} and BEI suggests that both uptake and efflux pathways of TCA are inhibited.				
Assays: Liquid scintillation counting				
Test Compound	Substrate	Incubation Time	Clearance (CL _{biliary}) IC ₅₀ (μM) ^a	Bile Excretion Index (BEI) IC ₅₀ (μM) ^a
Grazoprevir	[³ H]taurocholic acid (1 μM)	10 min	5.1 ± 1.0	>50
Grazoprevir	[³ H]taurocholic acid (1 μM)	24 hr	2.6 ± 0.8	5.0 ± 1.1
Cyclosporine A	[³ H]taurocholic acid (1 μM)	10 min	2.9 ± 0.8	10.2 ± 1.7
Cyclosporine A	[³ H]taurocholic acid (1 μM)	24 hr	1.4 ± 0.4	2.5 ± 0.5

グラゾプレビルは[³H]タウロコール酸1 μM の in vitro CL_{biliary} を阻害し、その見かけの IC₅₀は、インキュベーション時間が10分または24時間で各々5.1±1.0及び2.6±0.8 μM であった。グラゾプレビル50 μM は、10分間のインキュベーションで[³H]タウロコール酸1 μM の胆汁排泄指数（BEI）を約44%阻害した。よって、その IC₅₀の推定値は50 μM よりも大きい。また、24時間のインキュベーションで、[³H]タウロコール酸1 μM の BEIを阻害し、その見かけの IC₅₀は5.0±1.1 μM であった。

a： 平均値±標準偏差（n=3）

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.31 薬物動態試験：ヒト CYP3A4、CYP2B6及び CYP1A2の誘導

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of grazoprevir to induce CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 mRNA expression and activity in human hepatocytes. Method: Hepatocytes from three donors were plated in collagen I coated plates and cultured for approximately 48 hr and treated with vehicle control (0.1% DMSO), grazoprevir (0.1 to 20 µM), and positive controls (rifampicin [10 µM], phenobarbital [1000 µM], or omeprazole [50 µM]). At the end of the 48-hr incubation period, whole cell-based CYP3A4, CYP2B6 and CYP1A2 enzyme activities were measured using testosterone 6β-hydroxylation, bupropion hydroxylation and phenacetin O-deethylation, respectively, employing LC/MS/MS methods. Total RNA was isolated for quantitative PCR analysis of CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 mRNA expression. Assays: LC/MS/MS, mRNA isolation and real time PCR (polymerase chain reactions) Tabulated results: Assessment of grazoprevir as an inducer of CYP3A4 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (µM)	Lot Hu0965				Lot KQG				Lot SCT			
		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6β-hydroxylation		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6β-hydroxylation		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6β-hydroxylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Rifampicin	10	8387.1	100.0	17.8	100.0	106.2	100.0	14.2	100.0	10.3	100.0	5.5	100.0
Grazoprevir	0.1	1.9	0.0	0.9	NR	0.4	NR	1.1	0.9	1.0	0.2	0.6	NR
	0.5	0.7	0.0	0.7	NR	0.2	NR	1.0	NR	0.8	NR	0.5	NR
	1	1.4	0.0	0.6	NR	0.3	NR	0.8	NR	0.8	NR	0.4	NR
	5	12.1	0.3	0.3	NR	0.8	NR	0.6	NR	1.0	0.5	0.4	NR
	10	50.2	0.6	0.4	NR	1.4	0.3	0.5	NR	1.4	3.9	0.3	NR
	20	30.2	0.3	0.3	NR	1.8	0.7	0.4	NR	2.0	10.2	0.2	NR

グラゾプレビルは CYP3A4に対して有意な誘導を示さなかった。すなわち、グラゾプレビル0.1～20 µM を肝細胞 (n=3ロット) とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率 (%) の平均値は、陽性対照のリファンピシン (10 µM) と比べて20%未満であった。

a : 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値 (n=3)

b : 対照の溶媒で補正した陽性対照のリファンピシンに対する誘導の割合 (%)

NR : 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.31 薬物動態試験：ヒト CYP3A4、CYP2B6及び CYP1A2の誘導（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.8: G-PK014]

Tabulated results: Assessment of grazoprevir as an inducer of CYP2B6 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (µM)	Lot 246				Lot 285				Lot 295			
		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Phenobarbital	1000	17.8	100.0	12.2	100.0	7.3	100.0	8.7	100.0	10.2	100.0	9.7	100.0
Grazoprevir	0.1	0.8	NR	1.3	4.2	0.9	NR	0.8	NR	0.7	NR	1.0	NR
	0.5	0.7	NR	1.0	0.6	0.9	NR	0.8	NR	1.0	0.3	0.9	NR
	1	0.9	NR	1.0	NR	1.1	1.1	0.8	NR	0.6	NR	0.7	NR
	5	0.7	NR	0.8	NR	1.2	2.8	0.9	NR	0.8	NR	0.7	NR
	10	0.8	NR	0.6	NR	2.0	15.2	0.8	NR	1.2	2.2	0.6	NR
	20	1.1	0.7	0.4	NR	0.9	NR	0.5	NR	0.7	NR	0.4	NR

グラゾプレビルは CYP2B6 に対して有意な誘導を示さなかった。すなわち、グラゾプレビル 0.1～20 µM を肝細胞 (n=3 ロット) とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率 (%) の平均値は、陽性対照のフェノバルビタール (1000 µM) に比べて 20% 未満であった。

a : 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値 (n=3)

b : 対照の溶媒で補正した陽性対照のフェノバルビタールに対する誘導の割合 (%)

NR : 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 50 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.31 薬物動態試験：ヒト CYP3A4、CYP2B6及び CYP1A2の誘導（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.1: G-PK003]

Tabulated results: Assessment of grazoprevir as an inducer of CYP1A2 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (μM)	Lot Hu0965				Lot KQG				Lot SCT			
		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Omeprazole	50	58.9	100.0	20.0	100.0	64.6	100.0	17.6	100.0	30.5	100.0	13.5	100.0
Grazoprevir	0.1	0.7	NR	1.2	1.1	0.8	NR	0.9	NR	1.3	0.9	1.0	0.2
	0.5	0.5	NR	0.9	NR	0.5	NR	0.6	NR	0.9	1.0	1.0	NR
	1	0.5	NR	1.1	0.6	0.5	NR	0.7	NR	0.7	0.0	0.9	NR
	5	0.3	NR	0.7	NR	0.4	NR	0.8	NR	1.3	NR	0.8	NR
	10	0.2	NR	0.7	NR	0.3	NR	0.6	NR	0.6	NR	0.7	NR
	20	0.0	NR	0.5	NR	0.2	NR	0.6	NR	0.7	NR	0.5	NR

グラゾプレビルは CYP1A2 に対して有意な阻害を示さなかった。すなわち、グラゾプレビル0.1～20 µM を肝細胞 (n=3ロット) とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率 (%) の平均値は、陽性対照のオメプラゾール (50 µM) に比べて20%未満であった。

a : 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値 (n=3)

b : 対照の溶媒で補正した陽性対照のオメプラゾールに対する誘導の割合 (%)

NR : 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.32 薬物動態試験：本薬存在下でのピタバスタチン及びアトルバスタチンの肝取り込み及び代謝に関する検討（In Vitro）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.10: G-PK019]

Study system: In vitro		
Test systems: Human hepatocytes		
Methods: The inhibitory effect of grazoprevir (concentration range: 0.1 to 100 μM) on the uptake of [^3H]pitavastatin (0.1 and 1 μM) and [^3H]atorvastatin (0.1, 1, and 3 μM) was conducted in human hepatocytes (lot OTZ).		
Assays: Liquid scintillation counting		
Inhibitor	Substrate	IC ₅₀ (μM) ^a
Grazoprevir	[^3H]Pitavastatin (0.1 μM)	0.3 $\pm$ 0.03
	[^3H]Pitavastatin (1 μM)	0.7 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (0.1 μM)	0.4 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (1 μM)	0.4 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (3 μM)	0.6 $\pm$ 0.1
Rifampin	[^3H]Pitavastatin (0.1 μM)	0.9 $\pm$ 0.1
	[^3H]Pitavastatin (1 μM)	1.6 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (0.1 μM)	0.3 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (1 μM)	0.8 $\pm$ 0.1
	[^3H]Atorvastatin (3 μM)	ND

アッセイの機能性は、シクロスポリン A（5 μM ）存在下と非存在下で以下を確認した：シクロスポリン A 存在下でヒト肝細胞における [^3H]ピタバスタチン（0.1 及び 1 μM ）及び [^3H]アトルバスタチン（0.1、1、及び 3 μM ）の取り込みは阻害された。

ND： 算出せず：試験条件下でアトルバスタチンの取り込みの変化量が最小であったため

a： 平均値 $\pm$ 標準偏差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.32 薬物動態試験：本薬存在下でのピタバスタチン及びアトルバスタチンの肝取り込み及び代謝に関する検討 (In Vitro) (続き)

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.10: G-PK019]

Study system: In vitro			
Test systems: Human hepatocytes			
Methods: The inhibitory effect of grazoprevir (3 µM), boceprevir (BPV, 3 µM), rifampin (RIF, 20 µM), and ketoconazole (KTZ, 2 µM) on the metabolism of [³ H]pitavastatin (1 µM), [³ H]atorvastatin (3 µM), and midazolam (MDZ, 2 µM) was assessed in human hepatocytes (lot OTZ) incubations.			
Assays: LC/MS/MS			
Inhibitor	Substrate	% inhibition of total metabolite formation ^a	% inhibition of oxidative metabolite formation ^a
Grazoprevir	Pitavastatin (1 µM)	42.80 ± 2.43	NA
Boceprevir	Pitavastatin (1 µM)	21.71 ^b	NA
Rifampin	Pitavastatin (1 µM)	53.90 ± 4.16	NA
Ketoconazole	Pitavastatin (1 µM)	37.16 ± 11.65	NA
Grazoprevir	Atorvastatin (3 µM)	5.7 ± 3.8	4.8 ± 5.1
Boceprevir	Atorvastatin (3 µM)	7.32 ± 4.17	13.18 ± 12.39
Rifampin	Atorvastatin (3 µM)	35.33 ± 0.61	43.95 ± 1.50
Ketoconazole	Atorvastatin (3 µM)	17.88 ± 5.10	68.08 ± 1.89
Grazoprevir	Midazolam (1 µM)	12.42 ± 3.11	NA
Boceprevir	Midazolam (1 µM)	25.66 ± 0.71	NA
Rifampin	Midazolam (1 µM)	6.05 ± 2.62	NA
Ketoconazole	Midazolam (1 µM)	92.37 ± 0.32	NA

阻害率 (%) については、代謝物の生成を阻害薬存在下と非存在下（対照）間で比較評価した。

NA：該当なし：ピタバスタチン及びミダゾラムでは、総代謝物と酸化代謝物間で差がなかったため。

a： 平均値±標準偏差 (n=3)

b： n=2

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.33 薬物動態試験：ヒト肝細胞におけるアトルバスタチンの代謝経路に及ぼす本薬の阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.16: G-PK029]

Study system: In vitro Test systems: Human hepatocytes Methods: The inhibitory effect of grazoprevir (3 µM), ketoconazole (2 µM), rifampin (RIF, 20 µM), gemfibrozil (15 M), and montelukast (5 M) on the metabolism pathways of atorvastatin acid (3 µM), repaglinide (5 µM), and amodiaquine (20 µM) was assessed in human hepatocytes incubations. Assays: LC/MS/MS			
Inhibitor	Substrate	% formation of oxidative metabolites ^a	% formation of total metabolites ^b
Grazoprevir	Atorvastatin (3 µM)	82 ± 11	81 ± 11
Ketoconazole	Atorvastatin (3 µM)	14 ± 7	34 ± 9
Rifampin	Atorvastatin (3 µM)	54 ± 8	52 ± 8
Gemfibrozil	Atorvastatin (3 µM)	83 ± 15	85 ± 15
Montelukast	Atorvastatin (3 µM)	68 ± 45	67 ± 43

アトルバスタチンの酸化代謝物及び総代謝物の阻害がわずかであったことから、グラゾプレビルは、臨床濃度ではアトルバスタチンの OATP1B を介した肝取り込み又は CYP が関与する代謝に有意な影響を与えないことが示唆された。アッセイの機能性は、既知の CYP3A、CYP2C8又は OATP1B の阻害薬であるケトコナゾール、ゲムフィブロジル、モンテルカスト及びリファンピシンのアトルバスタチンに対する代謝で確認した。

- a： 平均値±標準偏差 (n=3)。酸化代謝物：オルソ-ヒドロキシアトルバスタチン (CYP3A が関与)、パラ-ヒドロキシアトルバスタチン (CYP3A が関与、わずかに CYP2C8が関与) が生成する割合 (%) は、阻害薬存在下と非存在下での代謝物の生成と比較することで評価した。
- b： 平均値±標準偏差 (n=3)。総代謝物：オルソ-ヒドロキシアトルバスタチン、パラ-ヒドロキシアトルバスタチン、及びアトルバスタチンラクトンが生成する割合 (%) は、阻害薬存在下と非存在下での代謝物の生成を比較することで評価した。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 54 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.33 薬物動態試験：ヒト肝細胞におけるアトルバスタチンの代謝経路に及ぼす本薬の阻害作用（続き）

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.16: G-PK029]

Inhibitor	Substrate	% formation rate constant of CYP2C8 mediated oxidative metabolites ^{a,b}	% elimination rate constant ^c
Grazoprevir	Repaglinide (5 µM)	120 ± 8	89 ± 12
Ketoconazole	Repaglinide (5 µM)	127 ± 10	33 ± 2
Rifampin	Repaglinide (5 µM)	82 ± 39	112 ± 18
Gemfibrozil	Repaglinide (5 µM)	10 ± 3	33 ± 6
Montelukast	Repaglinide (5 µM)	32 ± 3	27 ± 13
Grazoprevir	Amodiaquine (20 µM)	101 ± 21	67 ± 8
Ketoconazole	Amodiaquine (20 µM)	112 ± 64	71 ± 4
Rifampin	Amodiaquine (20 µM)	189 ± 29	76 ± 19
Gemfibrozil	Amodiaquine (20 µM)	30 ± 4	6 ± 7
Montelukast	Amodiaquine (20 µM)	68 ± 4	16 ± 7

グラゾプレビルの CYP2C8 (3-ヒドロキシレパグリニド又は N-脱エチルアモジアキンの生成) に対する阻害作用はわずか、あるいは認められず、さらに、検討した濃度 (3 µM) で CYP2C8 の有意な阻害作用は認められなかった。アッセイの機能性は、既知の CYP3A、CYP2C8 又は OATP1B 阻害薬であるケトコナゾール、ゲムフィブロジル、モンテルカスト及びリファンピシンのレパグリニド及びアモジアキンに対する代謝で確認した。

- a : 平均値±標準偏差 (n=3)。レパグリニドについては、阻害薬の存在下と非存在下での3-ヒドロキシレパグリニド（主に CYP2C8による代謝）の生成速度定数を比較し、その割合で評価した。
- b : 平均値±標準偏差 (n=3)。アモジアキンについては、阻害薬の存在下と非存在下での N-脱エチルアモジアキン（主に CYP2C8による代謝）の生成速度定数を比較することにより評価した。
- c : 平均値±標準偏差 (n=3)。消失速度定数の割合 (%) は、阻害薬の存在下と非存在下でのレパグリニド及びアモジアキンの消失速度定数を比較することにより評価した。

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.A.34 薬物動態試験：ヒト OATP1B1及び OATP1B3を介した本薬の取り込みに及ぼす HIV プロテアーゼインヒビターの阻害作用

被験物質：グラゾプレビル

[資料4.2.2.6.11: G-PK022]

Study system: In vitro Test systems: HEK-293 cells transiently transfected with OATP1B1 or OATP1B3 Methods: The inhibitory effect of several HIV protease inhibitors on OATP1B1-mediated [³ H]pitavastatin (0.1 µM), OATP1B3-mediated [³ H]bromosulphothalein and OATP1B1 and OATP1B3-mediated [³ H]grazoprevir (0.01 µM) uptake was conducted in transiently transfected OATP1B1 or OATP1B3 HEK-293 cells. Assays: Liquid scintillation counting					
HIV Protease Inhibitor	Test System	Substrate	IC ₅₀ (µM) ^a	Control Compound	IC ₅₀ (µM) ^a
Atazanavir	OATP1B1-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	0.89 ± 0.10	[³ H]Pitavastatin (0.1 µM)	1.36 ± 0.05
Atazanavir	OATP1B3-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	4.42 ± 0.77	[³ H]Bromosulphothalein (0.1 µM)	4.01 ± 0.29
Darunavir	OATP1B1-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	16.5 ± 2.8	[³ H]Pitavastatin (0.1 µM)	18.0 ± 2.5
Darunavir	OATP1B3-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	9.0 ± 2.3	[³ H]Bromosulphothalein (0.1 µM)	17.2 ± 1.0
Lopinavir	OATP1B1-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	0.30 ± 0.02	[³ H]Pitavastatin (0.1 µM)	0.26 ± 0.01
Lopinavir	OATP1B3-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	2.34 ± 0.33	[³ H]Bromosulphothalein (0.1 µM)	4.88 ± 0.41
Ritonavir	OATP1B1-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	1.54 ± 0.24	[³ H]Pitavastatin (0.1 µM)	0.64 ± 0.06
Ritonavir	OATP1B3-HEK293	[³ H]Grazoprevir (0.01 µM)	1.17 ± 0.19	[³ H]Bromosulphothalein (0.1 µM)	2.64 ± 0.19

a : 平均値±標準偏差 (n=3)

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B 薬物動態試験概要表（エルバスビル）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 57 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：エルバスビル

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号
吸収（単回投与）				
薬物動態及び経口バイオアベイラビリティ	ラット、イヌ	静脈内、経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.3: E-PK001]
薬物動態	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.4: E-PK005]
薬物動態	サル	静脈内	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.2.3: E-PK001]
分布				
単回投与時の組織分布	ラット	経口	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.3.7: E-PK008]
単回投与時の肝臓及び脳への分布	ラット	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.3: E-PK001]
血漿蛋白結合	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002] 評価 [資料4.2.2.2.4: E-PK005]
ヒト血清アルブミン及び α_1 -酸性糖蛋白への結合	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.3.8: E-PK012]
腎及び肝障害者における血漿蛋白結合	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.3.8: E-PK012] 評価 [資料4.2.2.3.9: E-PK024]
血球移行	ラット、イヌ、サル、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002]
胎盤通過	ラット、ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.3.10: E-TT [REDACTED] 7050] 評価 [資料4.2.2.3.11: E-TT [REDACTED] 7030]
代謝				
尿、胆汁、糞中代謝物	ラット	静脈内	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.5.4: E-PK017] 評価 [資料4.2.2.4.9: E-PK018]
血漿、胆汁、尿中代謝物	ラット	経口	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.4.6: E-PK003]
血漿、糞中代謝物	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.4: E-PK005]
胆汁、糞中代謝物	イヌ	静脈内	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.4.8: E-PK011] 評価 [資料4.2.2.5.3: E-PK016]
血漿、胆汁、糞中代謝物	イヌ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.4.6: E-PK003]
血漿、糞中代謝物	ヒト	経口	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.4.7: E-PK010] 評価 [資料4.2.2.5.2: E-PK013]
肝ミクロソーム、肝細胞	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002] 評価 [資料4.2.2.2.4: E-PK005]

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：エルバスビル

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号
排泄				
マスバランス（尿、胆汁、糞）	ラット、イヌ	静脈内、経口	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.4.6: E-PK003] 評価 [資料4.2.2.5.3: E-PK016] 評価 [資料4.2.2.5.4: E-PK017]
マスバランス（尿、糞）	ウサギ	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.2.4: E-PK005]
マスバランス（尿、糞）	ヒト	経口	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.5.2: E-PK013]
乳汁排泄	ラット	経口	MRL	評価 [資料4.2.2.3.10: E-TT [REDACTED] 7050]
薬物動態学的薬物相互作用（非臨床）				
CYP フェノタイピング	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.4.6: E-PK003]
CYP3A4の代謝物の動態	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.22: E-PK014]
肝細胞への取り込み	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002]
P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3輸送	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002] 評価 [資料4.2.2.6.18: E-PK004] 評価 [資料4.2.2.6.23: E-PK015]
ヒト CYP 阻害	ヒト	In vitro	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.24: E-PK019]
CYP3A 阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002]
UGT1A1阻害	ヒト	In vitro	MRL	評価 [資料4.2.2.6.21: E-PK009]
P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2輸送	ヒト	In vitro	MRL, [REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.17: E-PK002] 評価 [資料4.2.2.6.18: E-PK004] 評価 [資料4.2.2.6.19: E-PK006] 評価 [資料4.2.2.6.20: E-PK007] 評価 [資料4.2.2.6.26: E-PK021] 評価 [資料4.2.2.6.27: E-PK022] 評価 [資料4.2.2.6.28: E-PK023] 評価 [資料4.2.2.6.30: E-PK026]
CYP3A4、2B6及び1A2誘導	ヒト	In vitro	[REDACTED]	評価 [資料4.2.2.6.25: E-PK020]

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

[Redacted]

MRL : Merck Research Laboratories (Kenilworth, NJ, Rahway, NJ, and West Point, PA).

[Redacted]

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 60 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.2 分析法及びバリデーション試験

[2.6.4.B.2 項]参照

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 61 -

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

被験物質：エルバスビル

Species/Strain	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rat/Wistar Han	Rabbit/ Dutch-Belted	Dog/Beagle	Dog/Beagle	Monkey/ Cynomolgus
Study Number	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]	[資料4.2.2.2.4: E-PK005]	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]	[資料4.2.2.2.3: E-PK001]
Number of animals/Gender	3/Male	2/Male	3/Male	3/Female	3/Male	3/Male	3/Male
Feeding condition	Non-fasted	Non-fasted	Fasted	Fed	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	0.4% Hydroxypropyl methylcellulose (pH 4) ; Solution ^a	0.4% Hydroxypropyl methylcellulose (pH 4) ; Suspension ^a	3% Dimethyl acetamide / 97% of 40% hydroxypropyl-β -cyclodextrin ; Solution	10% Tween 80 ; Suspension	10% Tween 80 / 90% polyethylene glycol 400 ; Solution	20% Hydroxypropyl-β -cyclodextrin ; Solution	20% Hydroxypropyl-β -cyclodextrin ; Solution
Method of administration	P.O.	P.O.	IV	P.O.	P.O.	IV	IV
Dose (mg/kg)	30	300	5	100	2	1	1
Radionuclide	-	-	-	¹⁴ C	-	-	-
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters (Mean ± SD):							
AUC _{0-∞} (μM•hr)	2.3 ± 1.0	7.8 ^b	4.3 ± 1.6	1.7 ± 0.5	1.7 ± 0.3	2.4 ± 0.8	3.6 ± 0.2
Total CL _p (mL/(min•kg))	NA	NA	24 ± 8	NA	NA	8.4 ± 2.3	5.2 ± 0.3
V _{dss} (L/kg)	NA	NA	5.0 ± 1.1	NA	NA	3.0 ± 0.8	2.7 ± 0.4
t _{1/2} (hr)	NA	NA	4.2 ± 1.5	NA	NA	7.7 ± 2.3	16 ± 4
C _{max} (μM)	0.4 ± 0.3	0.6 ^b	NA	0.3 ± 0.1	0.29 ± 0.02	NA	NA
T _{max} (hr)	3.3 ± 1.2	5.0 ^b	NA	1.3 ± 0.6	3.3 ± 1.2	NA	NA
Bioavailability (%)	9 ± 4	3 ^b	NA	NA	35 ± 6	NA	NA

a：噴霧乾燥製剤（30% drug load）。製剤はクエン酸緩衝液で最終的に pH4に酸性化した。

b：n=2の平均値

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Species/Strain: Rat/Wistar Han Vehicle/Formulation: 10% Tween 80 Radionuclide: ¹⁴ C		Number of animals/Gender: 6 (1 per time point)/Male Method of administration: P.O. Specific activity: 3.4 μCi/mg			Feeding condition: Fasted Dose (mg/kg): 30 Assay: Quantitative Whole-Body Autoradiography		
Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (μg/g tissue)					
Tissue type	Tissue	2	6	10	36	72	168
Vascular/Lymphatic	Aorta	0.636	0.267	0.236	BLQ	BLQ	BLQ
	Blood (cardiac)	0.529	0.195	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Bone Marrow	2.169	1.494	0.538	0.253	BLQ	BLQ
	Lymph Node	1.228	1.327	0.686	0.250	BLQ	BLQ
	Spleen	4.109	2.260	1.046	0.405	0.212	0.169
	Thymus	1.104	1.690	1.064	0.338	0.236	BLQ
Excretory/Metabolic	Bile (in duct)	126.242	62.053	22.424	0.680	BLQ	BLQ
	Kidney Cortex	6.450	3.762	1.763	0.728	0.244	0.150
	Kidney Medulla	4.137	1.615	1.022	0.244	BLQ	BLQ
	Liver	9.735	4.314	1.431	0.320	0.131	0.114
	Urinary Bladder	0.557	BLQ	1.147	0.304	0.130	BLQ
	Urinary Bladder (contents)	3.922	1.037	0.189	BLQ	BLQ	BLQ
Central Nervouse System	Cerebellum	0.160	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Cerebrum	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Medulla	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Olfactory Lobes	0.191	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

投与後2、6及び10時間の血漿中濃度は各々0.778、0.221、及び0.097 µg equivalent/g であった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）（続き）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (µg/g tissue)					
		2	6	10	36	72	168
Tissue type	Tissue						
Central Nervouse System (Cont.)	Choroid Plexus	0.880	0.470	0.723	0.422	BLQ	BLQ
	Spinal Cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Endocrine	Adrenal Gland	10.015	3.989	1.370	0.301	0.335	BLQ
	Pituitary Gland	3.785	3.140	2.649	0.530	BLQ	BLQ
	Thyroid	4.032	2.186	0.613	0.242	BLQ	BLQ
Secretory	Exorbital Lacrimal Gland	1.019	1.497	0.734	0.390	0.443	BLQ
	Intraorbital Lacrimal Gland	1.100	1.261	0.914	0.510	0.318	BLQ
	Harderian Gland	0.823	2.104	1.201	1.723	0.560	0.191
	Mammary Gland Region	1.120	1.032	0.184	BLQ	BLQ	BLQ
	Pancreas	3.272	1.945	0.641	0.104	BLQ	BLQ
	Preputial Gland	2.192	2.440	1.592	0.572	BLQ	BLQ
	Salivary Gland	3.608	3.126	1.555	0.240	BLQ	BLQ
Fatty	Adipose (brown)	4.870	2.208	0.683	0.184	BLQ	BLQ
	Adipose (white)	1.188	1.039	0.653	0.185	BLQ	BLQ
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.681	0.706	0.389	0.177	0.177	BLQ
Reproductive	Epididymis	0.139	0.317	0.136	0.143	BLQ	BLQ
	Prostate Gland	0.891	1.068	0.722	0.235	BLQ	BLQ
	Seminal Vesicles	0.400	0.297	0.175	BLQ	BLQ	BLQ
	Testis	0.106	0.198	0.136	0.215	BLQ	BLQ

投与後2、6及び10時間の血漿中濃度は各々0.778、0.221、及び0.097 µg equivalent/gであった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.4 薬物動態試験：分布：単回投与（白色ラット：Wistar Hannover）（続き）

被験物質：エルバスビル
[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (µg/g tissue)					
		2	6	10	36	72	168
Tissue type	Tissue						
Skeletal/Muscular	Bone	BLQ	0.290	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Diaphragm	2.555	1.085	0.154	BLQ	BLQ	BLQ
	Heart (myocardium)	2.935	1.179	0.309	0.213	BLQ	BLQ
	Skeletal Muscle	1.131	0.809	0.241	0.148	BLQ	BLQ
Respiratory Tract	Lung	3.054	0.842	0.252	0.153	BLQ	BLQ
	Nasal Turbinates	BLQ	0.267	0.357	BLQ	BLQ	BLQ
Alimentary Canal	Cecum	1.631	162.799	248.435	0.556	BLQ	BLQ
	Cecum (contents)	0.418	2698.746*	593.251	8.024	0.486	BLQ
	Colon	1.042	1.207	10.479	0.586	BLQ	BLQ
	Colon (contents)	BLQ	35.847	820.033	57.035	0.742	BLQ
	Esophagus	1.515	0.281	0.357	BLQ	BLQ	BLQ
	Oral Mucosa	1.536	0.681	0.235	0.401	0.163	BLQ
	Small Intestine	123.499	209.126	2.663	0.415	0.145	BLQ
	Small Intestine (contents)	1774.827*	2732.374*	47.174	1.772	0.772	BLQ
	Stomach (gastric mucosa)	2.137	2.970	0.418	BLQ	BLQ	BLQ
	Stomach (contents)	33.488	0.192	0.416	BLQ	BLQ	BLQ
Ocular	Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Eye (uveal tract)	0.755	0.569	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

投与後2、6及び10時間の血漿中濃度は各々0.778、0.221、及び0.097 µg equivalent/gであった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

*： 定量範囲の上限（1583.124 µg equivalent/g tissue）を超えた値

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Species/Strain: Rat/Long-Evans		Number of animals/Gender: 4 (1 per time point)/Male		Feeding condition: Fasted	
Vehicle/Formulation: 10% Tween 80		Method of administration: P.O.		Dose (mg/kg): 30	
Radionuclide: ¹⁴ C		Specific activity: 3.4 μCi/mg		Assay: Quantitative Whole-Body Autoradiography	
Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (μg/g tissue)			
		6	10	72	672
Tissue type	Tissue				
Vascular/Lymphatic	Aorta	0.467	0.138	BLQ	BLQ
	Blood (cardiac)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Bone Marrow	0.409	0.323	BLQ	BLQ
	Lymph Node	0.683	0.650	BLQ	BLQ
	Spleen	0.813	0.521	BLQ	BLQ
	Thymus	0.724	0.504	BLQ	BLQ
	Excretory/Metabolic	Bile (in duct)	27.120	2.978	BLQ
Kidney Cortex		1.474	1.589	BLQ	BLQ
Kidney Medulla		1.103	1.109	BLQ	BLQ
Liver		1.296	1.013	BLQ	BLQ
Urinary Bladder		2.745	0.556	BLQ	BLQ
Urinary Bladder (contents)		0.570	0.205	BLQ	BLQ
Central Nervouse System		Cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ
	Cerebrum	0.100	BLQ	BLQ	BLQ
	Medulla	0.121	BLQ	BLQ	BLQ
	Olfactory Lobes	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

投与後6及び10時間の血漿中濃度は、各々0.085、及び0.071 µg equivalent/g であった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）（続き）

被験物質：エルバスビル
[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (µg/g tissue)			
		6	10	72	672
Tissue type	Tissue				
Central Nervouse System (Cont.)	Choroid Plexus	0.202	0.361	BLQ	BLQ
	Spinal Cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Endocrine	Adrenal Gland	1.512	0.977	BLQ	BLQ
	Pituitary Gland	0.981	0.835	BLQ	BLQ
	Thyroid	1.216	0.880	BLQ	BLQ
Secretory	Exorbital Lacrimal Gland	0.941	0.465	0.142	BLQ
	Intraorbital Lacrimal Gland	0.855	0.533	BLQ	BLQ
	Harderian Gland	0.850	0.764	0.230	BLQ
	Mammary Gland Region	0.247	0.245	BLQ	BLQ
	Pancreas	0.685	0.500	BLQ	BLQ
	Preputial Gland	0.876	1.094	BLQ	BLQ
	Salivary Gland	1.624	0.688	BLQ	BLQ
Fatty	Adipose (brown)	0.650	0.396	BLQ	BLQ
	Adipose (white)	0.344	0.140	BLQ	BLQ
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.351	0.494	BLQ	BLQ
	Skin (pigmented)	0.334	0.144	BLQ	BLQ
Reproductive	Epididymis	BLQ	0.260	BLQ	BLQ
	Prostate Gland	0.372	0.294	BLQ	BLQ
	Seminal Vesicles	0.144	0.118	BLQ	BLQ
	Testis	BLQ	0.176	BLQ	BLQ

投与後6及び10時間の血漿中濃度は、各々0.085、及び0.071 µg equivalent/g であった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.5 薬物動態試験：分布：単回投与（有色ラット：Long Evans）（続き）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.7: E-PK008]

Sampling Time (hr):		Elbasvir Radioequivalents (µg/g tissue)			
		6	10	72	672
Tissue type	Tissue				
Skeletal/Muscular	Bone	0.104	BLQ	BLQ	BLQ
	Diaphragm	0.440	0.203	BLQ	BLQ
	Heart (myocardium)	0.259	0.112	BLQ	BLQ
	Skeletal Muscle	0.248	0.156	BLQ	BLQ
Respiratory Tract	Lung	0.249	0.158	BLQ	BLQ
	Nasal Turbinates	0.124	0.180	BLQ	BLQ
Alimentary Canal	Cecum	23.172	2.955	BLQ	BLQ
	Cecum (contents)	2141.893*	216.776	BLQ	BLQ
	Colon	0.693	3.372	BLQ	BLQ
	Colon (contents)	BLQ	401.638	BLQ	BLQ
	Esophagus	0.235	0.231	BLQ	BLQ
	Oral Mucosa	0.538	0.334	BLQ	BLQ
	Small Intestine	1.433	0.585	BLQ	BLQ
	Small Intestine (contents)	6.381	6.991	BLQ	BLQ
	Stomach (gastric mucosa)	0.580	0.222	BLQ	BLQ
	Stomach (contents)	BLQ	1.085	BLQ	BLQ
Ocular	Eye (lens)	BLQ	BLQ	0.230	BLQ
	Eye (uveal tract)	1.356	2.366	1.016	1.198

投与後6及び10時間の血漿中濃度は、各々0.085、及び0.071 µg equivalent/g であった。

BLQ： 定量下限未満（0.099 µg equivalent/g tissue）

*： 定量範囲の上限（1583.124 µg equivalent/g tissue）を超えた値

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.6 薬物動態試験：分布：肝臓及び脳、単回投与

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.2.3: E-PK001]

Species/Strain	Rat/Wistar Han		
Number of animals/Gender	18 (3 per time point)/Male		
Feeding condition	Fasted		
Vehicle/Formulation	10% Tween 80/90% of 0.4% hydroxypropyl methylcellulose ; Solution		
Method of administration	P.O.	P.O.	P.O.
Dose (mg/kg)	30	30	30
Sample	Plasma	Liver	Brain
Analyte	Elbasvir	Elbasvir	Elbasvir
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters:			
Mean AUC _{0-24hr} (ng·hr/g)	502 ^a	96793	131
Tissue AUC _{0-24hr} /Plasma AUC _{0-24hr}	NA	193	0.26

a : ng·hr/mL

NA : 該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.7 薬物動態試験：蛋白結合（血漿蛋白、可逆的結合）

被験物質：エルバスビル

Study system: In vitro				
Target entity, Test system and method: Plasma, equilibrium dialysis, and LC/MS/MS and liquid scintillation counting (LSC)				
Analyte: Elbasvir or [¹⁴ C]elbasvir				
Species	Method	Conc. Tested (μM)	Fraction Unbound	Study No.
Mouse	LC/MS/MS	10	<0.001	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
Rat	LC/MS/MS	10	<0.001	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
Rabbit	LSC	1	0.012 ± 0.001	[資料4.2.2.2.4: E-PK005]
Rabbit	LSC	10	0.012 ± 0.001	
Dog	LC/MS/MS	10	<0.001	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
Monkey	LC/MS/MS	10	<0.001	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
Human	LC/MS/MS	1	<0.001	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
Human	LC/MS/MS	10	<0.001	

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿：n=4のデータ

ウサギ血漿：[¹⁴C]エルバスビルを用いたときの平均値±標準偏差（n=3）

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 70 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.8 薬物動態試験：蛋白結合（ヒト血清アルブミン、 α_1 -酸性糖蛋白、可逆的結合）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.8: E-PK012]

Study system: In vitro		
Target entity, Test system and method: Human serum albumin, α_1 -acid glycoprotein, equilibrium dialysis, and LC/MS/MS		
Analyte: Elbasvir		
Protein	Conc. Tested (μ M)	Fraction Unbound
Human Serum Albumin (40 mg/mL)	1	<0.005
Human Serum Albumin (40 mg/mL)	10	<0.005
α_1 -Acid Glycoprotein (1 mg/mL)	1	ND
α_1 -Acid Glycoprotein (1 mg/mL)	10	ND

n=6

ND：算出せず

α_1 -酸性糖蛋白への結合率は、非特異的な結合が観察されたため信頼できる値を算出できなかった。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 71 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.9 薬物動態試験：蛋白結合（腎及び肝機能障害者における可逆的結合）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.8: E-PK012]

Study system: In vitro Target entity, Test system and method: Human plasma (PN050), equilibrium dialysis, and LC/MS/MS Analyte: Elbasvir				
Sampling Time		Plasma at 3 hr post-dose on Day 10	Plasma at 8 hr post-dose on Day 10	Mean of 3 and 8 hr post-dose on Day 10
Subjects	Number of Subjects	Fraction Unbound	Fraction Unbound	Fraction Unbound
Healthy Human	8	<0.005	<0.005	<0.005
Severe Renally Impaired Patients	8	<0.005	<0.005	<0.005
Dialysis Patients with End Stage Renal Disease ^a	8	<0.005	<0.005	<0.005

血漿検体は、エルバスビル50 mg の10日間経口投与の最終日の投与後3及び8時間に採取した。

血漿蛋白結合試験は、様々な濃度のエルバスビルを含むプール血漿（各群8例）にエルバスビルを添加し、最終濃度1 µM で実施した。

a： 投与後3時間の血漿は透析実施前に、投与後8時間の血漿は透析後3時間に採取した。

[資料4.2.2.3.9: E-PK024]

Study system: In vitro Target entity, Test system and Method: Human plasma (PN009) from 7 or 8 subjects per group, equilibrium dialysis and LC/MS/MS Analyte: Elbasvir		
Subjects	Numbers of Subjects	Fraction Unbound
Healthy Human	8	<0.003
Mild Hepatic Impaired Patients	8	<0.003
Moderate Hepatic Impaired Patients	8	<0.003
Severe Hepatic Impaired Patients	7	<0.003

血漿蛋白結合試験は、臨床試験 PN009の投与前の個別血漿サンプル（各群7又は8例）にエルバスビルを添加し、最終濃度1 µM で実施した。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 72 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.10 薬物動態試験：血球移行性

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

Study system: In vitro		
Target entity, Test system and method: Blood and plasma, combustion, liquid scintillation counting (LSC)		
Analyte: [³ H]Elbasvir		
Species	Conc. Tested (μM)	Blood-to-plasma Ratio
Rat	0.1	0.62
	1	0.61
	10	0.61
Dog	0.1	0.91
	1	0.95
	10	0.95
Monkey	0.1	0.56
	1	0.58
	10	0.55
Human	0.1	0.62
	1	0.64
	10	0.61

n=3

エルバスビルの血液／血漿中濃度比は0.1～10 μM の濃度範囲で薬物濃度に非依存的であり、血液／血漿中濃度比の平均値はラット、イヌ、サル及びヒト血漿で各々0.61、0.94、0.56、及び0.62であった。

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 73 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.11 薬物動態試験：胎盤通過

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.3.10: E-TT 7050]、[資料4.2.2.3.11: E-TT 7030]

Species		Rat, Rabbit			
Gestation day / Number of animals		20/8 rats; 8 rabbits (4 animals per time point)			
Vehicle/Formulation		10% Tween 80 in water (rat and rabbit)			
Method of administration		P.O.			
Dose (mg/kg/day)		1000 (rat and rabbit)			
Analyte		Elbasvir			
Assay		LC/MS/MS			
Sample time (hr)	Mean Elbasvir Concentration (μM)^a				
	Rat, gestation day 20			Rabbit, gestation day 20	
	Maternal	Fetal	Maternal	Fetal	
	2	1.05 ± 0.161	0.00594 ± 0.000852	1.60 ± 0.399	0.00917 ± 0.00319
24	0.0522 ± 0.0522	0.00250 ± 0.000950	1.22 ± 0.299	0.00889 ± 0.00207	
Sample time (hr)	Plasma ratio (Fetal/Maternal)^b			Plasma ratio (Fetal/Maternal)^b	
2	0.00608 ± 0.00108			0.00564 ± 0.000804	
24	0.0220 ± ID			0.00751 ± 0.000975	

a： 平均値±標準誤差（n=4）

b： 個々の母動物と対応する胎児の血漿中濃度比の平均値±標準誤差

ID： データ不十分

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.12 薬物動態試験：代謝：In Vivo

被験物質：エルバスビル

Species	Rat (BDC)	Rat (BDC)	Rat	Rabbit	Dog (BDC)	Dog (BDC)	Human	Human
Study Number	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.5.4: E-PK017] [資料4.2.2.4.9: E-PK018]	[資料4.2.2.2.4: E-PK005]	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.4.8: E-PK011] [資料4.2.2.5.3: E-PK016]	[資料4.2.2.4.7: E-PK010] [資料4.2.2.5.2: E-PK013]	[資料4.2.2.4.7: E-PK010]
Number of Subjects/Gender	4/Male	3/Male	4/Male	3/Female	3/Male	2/Male	6/Male	6/Male
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fed	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle / Formulation	10% Tween 80 / 0.4% hydroxypropylmethyl-cellulose ; Solution	10% Tween 80 / 0.4% hydroxypropylmethyl-cellulose ; Solution	3% Dimethylacetamide / 97% of 40% hydroxypropyl-β-cyclodextrin ; Solution	10% Tween 80 ; Suspension	10% Tween 80 / 90% polyethylene glycol 400 ; Solution	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin (pH 4) ; Solution ^a	Polyethylene glycol 400 ; Solution	Capsules
Method of Administration	P.O.	P.O.	IV	P.O.	P.O.	IV	P.O.	P.O.
Dose	30 mg/kg	30 mg/kg	5 mg/kg	100 mg/kg	2 mg/kg	1 mg/kg	50-51 mg	200 mg
Radionuclide	³ H	³ H	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	NA
Radioactivity per subject	600 μCi/kg	2700 μCi/kg	285 μCi/kg	25 μCi/kg	100 μCi	40 μCi	200 μCi	NA
Biological Samples	Bile, Urine	Plasma	Bile, Urine, Feces	Plasma, Feces	Plasma, Bile, Feces	Bile, Feces	Plasma, Feces	Plasma
Analyte	Elbasvir and metabolites							
Assay	HPLC with radiometric detection, LC/MS/MS, liquid scintillation counting							

a： 塩酸にて酸性化した。

BDC：胆管カニューレ処置した動物

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.12 薬物動態試験：代謝：In Vivo（続き）

被験物質：エルバスビル

Species	Dose (mg/kg) / Route	Sample	Sampling Time or Period	Percent of Dose					Study Number
				m1	m2/m3 ^a	m4	m5	Parent	
Rat ^b	5/IV	Bile	0-48 hr	-	15.4	-	-	20.1	[資料4.2.2.5.4: E-PK017] [資料4.2.2.4.9: E-PK018]
Rat	5/IV	Urine	0-24 hr	-	<0.1	-	-	16.2	
Rat ^b	5/IV	Feces	0-48 hr	-	-	-	-	20.2	
Rat	30/P.O.	Bile	0-24 hr	-	+	+	+	+	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]
Rat ^c	30/P.O.	Urine	0-24 hr	-	-	-	-	- ^d	
Rat	30/P.O.	Plasma	1-8 hr	-	-	-	-	+	
Rabbit ^e	100/P.O.	Feces	0-48 hr	- ^d	- ^d	- ^d	-	+	[資料4.2.2.2.4: E-PK005]
Rabbit ^f	100/P.O.	Plasma	2 hr	-	- ^d	- ^d	-	+	
Dog	1/IV	Bile	0-48 hr	-	2.1	-	-	31.4	[資料4.2.2.4.8: E-PK011]
Dog	1/IV	Feces	6-72 hr	-	2.2	-	-	25.7	[資料4.2.2.5.3: E-PK016]
Dog	2/P.O.	Bile	0-24 hr	-	- ^d	-	-	+	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]
Dog	2/P.O.	Feces	0-24 hr	-	- ^d	-	-	+	
Dog	2/P.O.	Plasma	24 hr	-	-	-	-	+	
Human	50-51 ^d /P.O.	Feces	0-168 hr	-	19	-	-	75	[資料4.2.2.4.7: E-PK010]
Human	50-51 ^d /P.O.	Plasma	3, 8 hr	-	-	-	-	+	[資料4.2.2.5.2: E-PK013]
Human	200 ^g /P.O.	Plasma	0-120 hr	- ^h	- ^h	- ^h	- ^h	+ ^h	

a：代謝物は共溶出ピークとして検出された。

b：投与量の8%に相当する2種類のマイナーな代謝物の構造は解明されていない。

c：1例から得られたデータ

d：LC/MSで低値が検出されたのみ（放射能検出器付き HPCL では検出されず）

e：代謝物 m1a、m1b、m2a、m2b、m2c、m3及び m4は、LC/MS のみで検出された。

f：代謝物 m2b 及び m4は、LC/MSで低値が検出されたのみ（放射能検出器付き HPCL では検出されず）

g：mg／被験者

h：ピークの検出は LC/MS でのみ実施した。

＋：放射能検出あり

－：放射能検出なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 76 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.13 薬物動態試験：代謝：In Vitro

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]、[資料4.2.2.2.4: E-PK005]

Study System: In vitro				
Type of Study: Experiments were conducted to evaluate the metabolism of elbasvir in incubations with liver preparations.				
Analytes: Elbasvir and metabolites				
Assays: LC/MS/MS with radiochemical detection				
Species	Sample / concentration	Observed metabolites		Parent
		m1	m2/m3 ^a	
Rat	Liver microsomes ^b / 1 mg/mL	-	-	+
Rabbit	Liver microsomes ^c / 1 mg/mL	+	+	+
Dog	Liver microsomes ^b / 1 mg/mL	-	+	+
Human	Liver microsomes ^b / 1 mg/mL	-	+	+
Mouse	Hepatocytes ^d / 1 million cells/mL	-	+ ^e	+
Rat	Hepatocytes ^d / 1 million cells/mL	- ^f	+	+
Dog	Hepatocytes ^d / 1 million cells/mL	- ^f	+	+
Human	Hepatocytes ^d / 1 million cells/mL	+	+	+

a：代謝物は共溶出ピークとして検出された。

b：10 µM [¹⁴C]エルバスビル存在下で肝ミクロソームを2.5時間インキュベーションした。

c：10 µM [¹⁴C]エルバスビル存在下で肝ミクロソームを1時間インキュベーションした。

d：1 µM [³H]エルバスビル存在下で肝細胞を24時間インキュベーションした。2種類の水酸化代謝物 m1a 及び m1b の合計。

e：代謝物 m2が低値で検出された。

f：LC/MS で低値が検出されたのみ（放射能検出器付き HPCL では検出されず）

+: 放射能検出あり

-: 放射能検出なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 77 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.14 薬物動態試験：マスバランス

被験物質：エルバスビル

Species	Rat (BDC)	Rat (BDC)	Rat (BDC)	Rabbit	Dog (BDC)	Dog (BDC)	Human
Study number	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.5.4: E-PK017]	[資料4.2.2.2.4: E-PK005]	[資料4.2.2.4.6: E-PK003]	[資料4.2.2.5.3: E-PK016]	[資料4.2.2.5.2: E-PK013]
Number of animals/Gender	4/M	4/M	4/M	3/F	3/M	2/M	6/M
Feeding condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fed	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	10% Tween 80 / 0.4% hydroxypropyl- methylcellulose; Solution	20% Hydroxypropyl -β-cyclodextrin; Solution	3% Dimethyl acetamide / 97% of 40% hydroxypropyl -β-cyclodextrin; Solution	10% Tween 80 ; Suspension	10% Tween 80 / 90% polyethylene glycol 400 ; Solution	20% Hydroxypropyl-β -cyclodextrin (pH 4) ^a ; Solution	Polyethylene glycol 400 ; Solution
Method of administration	P.O.	IV	IV	P.O.	P.O.	IV	P.O.
Dose	30 mg/kg	3 mg/kg	5 mg/kg	100 mg/kg	2 mg/kg	1 mg/kg	50-51 mg
Radionuclide	³ H	³ H	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C	¹⁴ C
Radioactivity per subject	600 μCi/kg	650 μCi/kg	285 μCi/kg	25 μCi/kg	100 μCi	40 μCi	200 μCi
Analyte	Total radioactivity						
Assay	Combustion and/or liquid scintillation counting						
Collection Period (hr)	0-72	0-72	0-72	0-72	0-72	0-72	0-240
Excretion Route	Percent of Administered Dose ^b						
Bile	7.8 ± 1.1	30.3 ± 8.8	41.0 ± 4.1	NA	8.7 ± 3.4	37.8	NA
Urine	0.8 ± 0.4	12.1 ± 3.3	16.9 ± 1.8	1.2 ± 1.1	0.5 ± 0.1	3.3	0.2 ± 0.1
Feces	61.0 ± 18.7	17.1 ± 11.4	30.0 ± 4.5	69.8 ± 16.7	60.8 ± 29.4	27.9	94.1 ± 5.7
Cage Wash and/or Cage Wipe	0.1 ± 0.1	1.3 ± 1.1	1.0 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.8	0.5	NA
Total	69.8 ± 18.4	60.7 ± 10.7	89.0 ± 1.6	71.1 ± 17.1	70.5 ± 25.9	69.4	94.3 ± 5.7

a： 塩酸により酸性化した。

b： 平均値 (n=2)、又は平均値±標準偏差 (n=3～6)

BDC：胆管カニューレ処置した動物

NA：該当なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.15 薬物動態試験：乳汁排泄

被験物質：エルバスビル
[資料4.2.2.3.10: E-TT 7050]

Species	Rat
Lactation day / Number of animals	14/4 rats
Vehicle/Formulation	10% Tween 80 in water
Method of administration	P.O.
Dose (mg/kg/day)	1000 (rat)
Analyte	Elbasvir
Assay	LC/MS/MS
Sample	Concentration (μM) ^a
Maternal plasma	1.40 ± 0.150
Maternal milk	5.75 ± 0.629
Ratio (milk/plasma)	4.15 ± 0.264 ^b

a： 平均値±標準誤差（n=4）

b： 個々の乳汁中濃度を対応する母動物血漿中濃度で除した値なので単位なし。平均値±標準誤差（n=4）

2.6.5 薬物動態試験概要表

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.16 薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

Study Systems: In vitro Test Systems: Human liver microsomes (1 nmol/mL) incubated with CYP isoform-selective chemical inhibitors (at various concentrations) at 37°C for 120 min in the presence of an NADPH-regeneration system Compound: Elbasvir at 10 µM Assay: LC/MS/MS							
Metabolite	% Inhibition ^a						
	α-Naphthoflavone	Montelukast	Sulfaphenazole	(S)-(+)-N-3-Benzylrivanol	Ticlopidine	Quinidine	Ketoconazole
m2/m3 ^b	4	4	NI	NI	12	12	64

CYP 分子種に選択的な化学的阻害薬存在下で、プールヒト肝ミクロソームにおける m2/m3の生成に対する阻害について検討した。α-ナフトフラボン (10 µM, CYP1A2)、モンテルカスト (2 µM, CYP2C8)、スルファフェナゾール (3 µM, CYP2C9)、(S)-(+)-N-3-ベンジルニルバノール (1 µM, CYP2C19)、チクロピジン (20 µM, CYP2B6 / CYP2C19)、キニジン (5 µM, CYP2D6)、及びケトコナゾール (2 µM, CYP3A) を、エルバスビル10 µM 存在下でプールヒト肝ミクロソームと各々インキュベーションした。エルバスビルの免疫阻害試験も、抗 CYP3A 抗体を用いて実施した。プールヒト肝ミクロソーム (1 nmol/mL) と抗 CYP3A 抗体 (2 mg 蛋白 / mg ミクロソーム蛋白) 及びエルバスビル1 µM を、NADPH regeneration system の存在下で37°C、90分間インキュベーションした。エルバスビルの m2/m3への代謝は、CYP3A に選択的な抗体により91%阻害された。このことは、エルバスビルの酸化的代謝が主に CYP3A を介するものであるという化学的阻害試験の結果と一貫していた。

a： 平均値 (n=2)

b： 代謝物は共溶出ピークとして検出された。

NI： 阻害せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 80 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.16 薬物動態試験：代謝：チトクローム P450フェノタイピング（続き）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

Study Systems: In vitro Test Systems: Human liver microsomes (2.1 mg/mL) or recombinant human CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, or CYP3A4 (0.25 nmol P450/mL) incubated at 37°C for 90 min in the presence of an NADPH-regeneration system Compound: Elbasvir at 1 µM Assay: LC/MS/MS								
Metabolite	Human Liver Microsomes	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
m1	+	-	-	-	-	-	-	+
m2/m3 ^a	+	-	-	-	-	-	-	+

エルバスビルを遺伝子組換え CYP450分子種とインキュベーションした結果、CYP3A を介した酸化的代謝が認められた。

a： 代謝物は共溶出ピークとして検出された。

＋： LC/MS/MS にて検出あり

－： LC/MS/MS にて検出なし

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 81 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.17 薬物動態試験：代謝：CYP3A4による代謝物の動態

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.22: E-PK014]

Study Systems: In vitro Test Systems: Human recombinant CYP3A4 (25 pmol/mL) incubated with elbasvir (0.1-25 μ M) at 37°C for 5 min in the presence of NADPH Compound: Elbasvir Assay: LC/MS/MS				
Metabolite	K_m^a (μ M)		V_{max}^a (pmol/min/pmol P450)	
	K_{m1}	K_{m2}	V_{max1}	V_{max2}
m2	0.7 ± 0.1	3.7 ± 1.6	0.4 ± 0.0	0.6 ± 0.1
m3	0.8 ± 0.1	4.6 ± 2.1	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.2

m2及び m3の生成は二相性の動態を示した。 K_{m1} 、 K_{m2} 、 V_{max1} 及び V_{max2} の推定値は Eadie-Hofsteeh 変換したデータから得た。

a： 平均値±標準誤差

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 82 -

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.18 薬物動態試験：ヒト肝細胞への取り込み

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

Study System: In vitro				
Type of Study: Experiments were conducted to evaluate the uptake of elbasvir into human hepatocytes.				
Assays: Liquid scintillation counting				
Hepatocytes	Substrate	Inhibitor	Temperature	Reduction of Uptake
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	NA	37°C	-
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	NA	4°C	+
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	Cyclosporine A (10 µM)	37°C	+
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	Rifamycin SV (100 µM)	37°C	-
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	Quinidine (50 µM)	37°C	-
Human	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	Rifampin (200 µM)	37°C	-

エルバスビルの時間依存的な取り込みは、シクロスポリン A (10 µM) により阻害されたが、リファマイシン SV (100 µM)、キニジン (50 µM)、又はリファンピシン (200 µM) には阻害されなかったことから、シクロスポリン A に感受性のあるトランスポーターがエルバスビルの取り込みに寄与している可能性が示唆された。エルバスビルは非特異的結合が相対的に高いため、この試験は0.1%ウシ血清アルブミン存在下で実施した。最初の試験では、エルバスビルの取り込みは、4°C に比べて37°C で顕著であった。このことから、ヒト肝細胞におけるエルバスビルの分布には取り込みトランスポーターが関与していることが示唆された。

NA：該当なし

-：観察されず

+：観察された

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 83 -

2.6.5.B.19 薬物動態試験：ヒト P-Glycoprotein、BCRP、OATP1B1及び OATP1B3を介した輸送

被験物質：エルバスビル

Study System: In vitro.				
Type of Study: Experiments were conducted to evaluate elbasvir as a substrate of P-glycoprotein, BCRP, OATP1B1, and OATP1B3				
Assays: Liquid scintillation counting				
Transporter	Cell Lines	Substrate	Substrate of Transporter	Study No.
P-glycoprotein	MDCKII-MDR1	[³ H]Elbasvir (0.5 µM)	Yes ^a	[資料4.2.2.6.18: E-PK004]
P-glycoprotein	MDCKII-MDR1	[³ H]Elbasvir (1 µM)	Yes ^a	
BCRP	MDCKII-BCRP	[³ H]Elbasvir (0.5 µM)	ND ^b	[資料4.2.2.6.18: E-PK004]
OATP1B1	MDCKII-OATP1B1	[³ H]Elbasvir (0.1 µM)	ND ^c	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
OATP1B1	MDCKII-OATP1B1	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	ND ^c	
OATP1B1	HEK293-OATP1B1	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	ND ^c	[資料4.2.2.6.23: E-PK015]
OATP1B3	MDCKII-OATP1B3	[³ H]Elbasvir (0.1 µM)	ND ^d	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
OATP1B3	MDCKII-OATP1B3	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	ND ^d	
OATP1B3	HEK293-OATP1B3	[¹⁴ C]Elbasvir (0.5 µM)	ND ^d	[資料4.2.2.6.23: E-PK015]

エルバスビルは、対照の MDCKII 細胞において受動的膜透過性を示した (P_{app} : $0.7 \sim 4.7 \times 10^{-6}$ cm/s)。最初の試験では、対照の MDCKII 細胞における P_{app} は、シクロスポリン A (10 µM) 非存在下又は存在下で、各々 4.7×10^{-6} cm/s 又は 3.6×10^{-6} cm/s であった。次の試験では、対照の MDCKII 細胞における P_{app} は、PSC833 (0.5 µM) 又は Ko143 (2 µM) の存在下で、各々 1.6×10^{-6} cm/s 又は 0.7×10^{-6} cm/s であった。アッセイの機能性は、P-gp、BCRP、OATP1B1、及び OATP1B3 の陽性対照薬 (各々ベラパミル: 1 µM、メトトレキサート: 10 µM、エストラジオール-17β-グルクロニド: 1 µM、及びコレシストキニンオクタペプチド CCK8: 5 nM) を用いた場合に正常範囲に入ることを確認した。

- a: エルバスビル濃度が0.5及び1 µM のとき、対照である非発現 MDCKII 細胞 (単層) における Flux ratio (B-A/A-B 比) は各々5.1及び4.7、並びに MDR1 を遺伝子導入した MDCKII 細胞 (単層) における Flux ratio は各々19.4及び21.0であった。
- b: 非特異性結合が高い、又は内因性輸送がみられたことから、信頼性のある値を決定できなかった。
- c: 予備検討では、バックグラウンドレベルが高かったため、エルバスビル (0.1 µM) が OATP1B1 の基質であるかどうかを判断することができなかった。続く検討では、遺伝子導入した細胞株で非特異的結合が高く認められたものの、エルバスビル (0.5 µM) が OATP1B1 の基質ではないことが示された。
- d: 予備検討では、エルバスビル (0.1 µM) が OATP1B3 の基質であることが示唆された。続く検討では、遺伝子導入した細胞株で非特異的結合が高く認められたものの、エルバスビル (0.5 µM) が OATP1B3 の基質ではないことが示された。

ND: 算出せず

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.20 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450に対する可逆的阻害作用

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.24: E-PK019]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of elbasvir to act as an inhibitor of human liver microsomal cytochrome P450 (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) activities.				
Test system: Human liver microsomes				
Assay: LC/MS/MS:				
Reaction	CYP	Positive Control Inhibitor	IC ₅₀ (μM) ^a	
			Elbasvir ^b	Positive Control
Phenacetin <i>O</i> -deethylation	CYP1A2	α-Naphthoflavone	>100 (-2 ± 1%)	0.014
Bupropion hydroxylation	CYP2B6	Ticlopidine	>100 (13 ± 4%)	0.37
Amodiaquine <i>N</i> -deethylation	CYP2C8	Montelukast	>100 (14 ± 1%)	0.18
Diclofenac 4'-hydroxylation	CYP2C9	Sulfaphenazole	>100 (19 ± 4%)	0.80
(<i>S</i>)-Mephenytoin 4'-hydroxylation	CYP2C19	Benzylrivanol	>100 (12 ± 1%)	0.23
Dextromethorphan <i>O</i> -demethylation	CYP2D6	Quinidine	>100 (9 ± 1%)	0.15
Midazolam 1'-hydroxylation	CYP3A4	Ketoconazole	>100 (26 ± 1%)	0.025
Testosterone 6β-hydroxylation	CYP3A4	Ketoconazole	>100 (13 ± 4%)	0.032

ヒト肝ミクロソームの7種類の CYP に対するエルバスビルの阻害能 (IC₅₀) について、基質の見かけの K_m 値に近い濃度でインキュベーションすることにより検討した。陽性対照の阻害薬 (IC₅₀<1 μM) と比較して、エルバスビルは全7種類の CYP 活性に対して阻害を示さなかった (IC₅₀>100 μM)。

a : 溶媒単独時と比較して酵素活性を50%まで低下させるのに必要な阻害薬又はエルバスビル濃度

b : カッコ内は、100 μM における阻害率の平均値±標準偏差

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 85 -

2.6.5.B.21 薬物動態試験：ヒト CYP3A に対する時間依存的阻害作用

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.17: E-PK002]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of elbasvir to inhibit CYP3A in a time-dependent manner in human liver microsomes	
Method: Pooled human liver microsomes (1 mg/mL) were pre-incubated at 37°C with 10 and 50 µM of elbasvir in 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) with 1 mM EDTA, 6 mM magnesium chloride, and an NADPH-generating system for a duration ranging from 5 to 30 min. The incubation mixtures were diluted 10-fold with the same buffer containing 250 µM testosterone and an NADPH-generating system. The incubation was continued for an additional 10 min to monitor the extent of testosterone 6β-hydroxylation. The first order rate constants (k_{obs}) for inactivation at the various concentrations were calculated from the negative slope of the lines by linear regression analysis of the natural logarithm of the remaining activity as a function of time.	
Tabulated results: Time-dependent inhibition of human cytochrome P450 3A by elbasvir	
Concentration of elbasvir (µM)	k_{obs} (min ⁻¹)
0	0.005
10	0.008
50	0.010

エルバスビルは50 µM までの濃度で、CYP3A に対して有意な時間依存的阻害を示さなかった ($k_{\text{obs}} < 0.015 \text{ min}^{-1}$)。陽性対照薬ミフェプリストン10 µM ($k_{\text{obs}} 0.053 \text{ min}^{-1}$) 及び50 µM ($k_{\text{obs}} 0.058 \text{ min}^{-1}$) では、30分間のプレインキュベーションで>80%の阻害を示した。

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.22 薬物動態試験：ヒト UGT1A1に対する阻害作用

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.21: E-PK009]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of elbasvir to act as an inhibitor of human UGT1A1 activity.				
Test system: Human liver microsomes				
Methods: Pooled human liver microsomes were incubated with 20 µM estradiol, a substrate for UGT1A1 for 20 min. Estradiol glucuronide was quantified in the absence (solvent control) or the presence of elbasvir. Nicardipine was used as a positive inhibitory control.				
Assay: LC/MS/MS				
Reaction	Enzyme	Positive Control Inhibitor	IC ₅₀ (µM) ^a	
			Elbasvir	Positive Control
Estradiol 3-glucuronidation	UGT1A1	Nicardipine	70.9 ± 12.7	2.7 ± 0.2

陽性対照薬のニカルジピン（IC₅₀ = 2.7 µM）と比較して、エルバスビルは UGT1A1に対して阻害を示さなかった（IC₅₀ = 70.9 µM）。

a： 溶媒単独時と比較して酵素活性を50%まで低下させるのに必要な阻害薬又はエルバスビル濃度。平均値±標準偏差

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.23 薬物動態試験：ヒト P-Glycoprotein、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、MRP2、MRP3、MRP4、OAT1、OAT3、OCT2
を介した輸送に対する阻害作用

被験物質：エルバスビル

Study system: In vitro Assays: Liquid scintillation counting					
Transporter	Cell Lines	Substrate	IC ₅₀ (μM)	Positive Control Inhibitor	Study No.
P-glycoprotein	LLC-PK1-MDR1	[³ H]Digoxin (0.1 μM)	ND	Not applied	[資料4.2.2.6.19: E-PK006]
P-glycoprotein	LLC-PK1-MDR1	[³ H]Digoxin (0.1 μM)	>0.5	Cyclosporine A (10 μM)	[資料4.2.2.6.28: E-PK023]
P-glycoprotein	S ₉ -MDR1	[³ H]N-methylquinidine (0.1 μM)	0.32 ± 0.02 ^a	Verapamil (0.3-1000 μM), Diltiazem (0.1-1000 μM), Itraconazole (0.1-10 μM), Ledipasvir (0.001-1 μM)	[資料4.2.2.6.27: E-PK022]
BCRP	S ₉ -BCRP	[³ H]Methotrexate (10 μM)	0.15 ± 0.02 ^a	Ko143 (2 μM)	[資料4.2.2.6.18: E-PK004]
BSEP	S ₉ -BSEP	[³ H]Taurocholic Acid (1 μM)	>0.3	Atorvastatin (100 μM)	[資料4.2.2.6.20: E-PK007]
OATP1B1	MDCKII-OATP1B1	[³ H]Pitavastatin (0.1 μM)	>0.5	Cyclosporine A (5 μM)	[資料4.2.2.6.17: E-PK002]
OATP1B3	MDCKII-OATP1B3	[³ H]Cholecystokin octapeptide (5 nM)	0.10 ± 0.01 ^a	Cyclosporine A (5 μM)	[資料4.2.2.6.26: E-PK021]
MRP2	S ₉ -MRP2	[¹⁴ C]Ethacrynic Acid Glutathione Conjugate (1 μM)	>0.3	Bromosulfophthalein (100 μM)	[資料4.2.2.6.20: E-PK007]
MRP3	S ₉ -MRP3	[³ H]Estradiol-17β-glucuronide (1 μM)	>0.3	Bromosulfophthalein (100 μM)	
MRP4	S ₉ -MRP4	[³ H]Folic Acid (10 μM)	≥0.3	Bromosulfophthalein (100 μM)	
OAT1	MDCKII-OAT1	[³ H]cidofovir (1 μM)	>0.5	Probenecid (1 mM)	[資料4.2.2.6.30: E-PK026]
OAT3	MDCKII-OAT3	[³ H]estrone-3-sulfate (0.1 and 1 μM)	>0.5	Probenecid (1 mM)	
OCT2	CHO-K1-OCT2	[¹⁴ C]metformin (10 μM)	>0.5	Quinidine (100 μM)	

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

最初の試験では、エルバスビル0.3～30 μM のとき、P-pg を介するジゴキシンの輸送に対する阻害は20%未満であった。繰り返し実施した試験では、検討した最高濃度0.5 μM において、P-pg を介するジゴキシンの総輸送を阻害しないことが確認できた。P-pg を介する N-メチルキニジンの輸送に対するエルバスビルの阻害作用は、バキュロウイルス感染によりヒト MDR1を発現させたヨトウガ細胞 [*Spodoptera frugiperda* (Sf9)] から調製した膜ベシクルを用いて検討した。陽性対照に用いた、ベラパミル、ジルチアゼム、イトラコナゾール、及びレディパスビルの IC_{50} は各々2.9、31、0.9、及び0.39 μM であった。

OATP1B1を介したピタバスタチンの輸送、及びMRP4を介した葉酸の輸送に対する阻害の程度は、エルバスビルの検討した最高濃度（各々0.5及び0.3 μM ）において各々23%及び42%であった。

BSEP を介したタウロコール酸の輸送、MRP2を介したエタクリン酸のグルタチオン抱合体の輸送、及びMRP3を介したエストラジオール-17 β -グルクロニドの輸送に対して、エルバスビルの検討した最高濃度（0.3 μM ）で有意な阻害作用は認められなかった。

アッセイの機能性は、BCRP 及び BSEP の陽性対照薬（各々Ko143：2 μM 及びアトルバスタチン：100 μM ）を用いた場合に正常範囲に入ることを確認した。OATP1B1 及び OATP1B3の陽性対照薬には、シクロスポリン A（5 μM ）を用いた。MRP2、MRP3、及びMRP4の陽性対照薬には、スルホプロモフタレイン（100 μM ）を用いた。

a： 平均値±標準誤差

ND： 算出せず

2.6.5 薬物動態試験概要表

- 89 -

2.6.5.B.24 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450 3A4、2B6及び1A2の誘導

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.25: E-PK020]

Type of study: In vitro experiments were performed to evaluate the potential of elbasvir to induce CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 mRNA expression and activity in human hepatocytes. Method: Hepatocytes from three donors were plated in collagen I coated plates and cultured for approximately 48 hr and treated with vehicle control (0.1% DMSO), elbasvir (0.1 to 20 μ M), and positive controls (rifampicin [10 μ M], phenobarbital [1000 μ M], or omeprazole [50 μ M]). At the end of the 48-hr incubation period, whole cell-based CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 enzyme activities were measured using testosterone 6 β -hydroxylation, bupropion hydroxylation and phenacetin <i>O</i> -deethylation, respectively, employing LC/MS/MS methods. Total RNA was isolated for quantitative PCR analysis of CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 mRNA expression. Assays: LC/MS/MS, mRNA isolation and real time PCR (polymerase chain reactions) Tabulated results: Assessment of elbasvir as an inducer of CYP3A4 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (μ M)	Lot 246				Lot 285				Lot 295			
		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6 β -hydroxylation		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6 β -hydroxylation		CYP3A4 mRNA		Testosterone 6 β -hydroxylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Rifampicin	10	9.2	100.0	6.0	100.0	44.4	100.0	7.5	100.0	9.0	100.0	4.2	100.0
Elbasvir	0.1	0.2	NR	0.6	NR	2.2	2.8	1.3	4.9	0.6	NR	1.3	10.2
	0.5	0.4	NR	0.6	NR	3.0	4.7	1.0	NR	0.6	NR	1.2	7.4
	1	0.4	NR	0.5	NR	4.2	7.4	0.9	NR	1.1	1.3	1.1	3.6
	5	0.4	NR	0.6	NR	4.4	7.8	0.9	NR	1.1	0.7	0.9	NR
	10	0.7	NR	0.5	NR	4.3	7.6	0.9	NR	1.7	8.3	1.1	2.2
	20	1.1	1.4	0.6	NR	5.1	9.4	0.9	NR	1.4	5.4	1.0	NR

エルバスビルは CYP3A4 に対して有意な誘導を示さなかった [エルバスビル0.1～20 μ M を肝細胞 (n=3ロット) とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率 (%) の平均値は、陽性対照のリファンピシン (10 μ M) と比べて20%未満であった]。

a : 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値 (n=3)

b : 対照の溶媒で補正した陽性対照のリファンピシンに対する誘導の割合 (%)

NR : 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。

グラゾプレビル／エルバスビル

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.24 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450 3A4、2B6及び1A2の誘導（続き）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.25: E-PK020]

Tabulated results: Assessment of elbasvir as an inducer of CYP2B6 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (μM)	Lot 246				Lot 285				Lot 295			
		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation		CYP2B6 mRNA		Bupropion hydroxylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Phenobarbital	1000	11.0	100.0	13.9	100.0	6.9	100.0	6.5	100.0	8.1	100.0	8.6	100.0
Elbasvir	0.1	0.3	NR	0.8	NR	1.6	10.0	1.1 ^c	4.6	0.4	NR	0.9	NR
	0.5	0.5	NR	0.9	NR	1.8	13.8	0.9	NR	0.4	NR	1.0	0.2
	1	0.4	NR	1.3	4.7	1.5	8.5	0.7	NR	0.6	NR	1.2	4.6
	5	0.4	NR	1.3	3.6	1.8	14.5	0.8	NR	0.5	NR	1.4	9.4
	10	0.8	NR	1.1	1.6	1.6	9.8	0.9 ^c	NR	1.1 ^c	1.2	1.6	14.0
	20	1.3	2.7	1.6	7.6	2.1	18.0	1.9	26.7	0.7	NR	0.8	17.8

エルバスビルは CYP2B6 に対して有意な誘導を示さなかった [エルバスビル0.1～20 μM を肝細胞（n=3ロット）とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率（%）の平均値は、陽性対照のフェノバルビタール（1000 μM）と比べて20%未満であった]。

a： 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値（n=3）

b： 対照の溶媒で補正した陽性対照のフェノバルビタールに対する誘導の割合（%）

c： 1例が外れ値であったため、2例の平均値を示した。

NR： 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.B.24 薬物動態試験：ヒトチトクローム P450 3A4、2B6及び1A2の誘導（続き）

被験物質：エルバスビル

[資料4.2.2.6.25: E-PK020]

Tabulated results: Assessment of elbasvir as an inducer of CYP1A2 in human hepatocytes													
Treatment	Dose (μM)	Lot 246				Lot 285				Lot 295			
		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation		CYP1A2 mRNA		Phenacetin <i>O</i> -deethylation	
		Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b	Fold ^a	%PC ^b
Omeprazole	50	41.4	100.0	12.4	100.0	39.5	100.0	9.8	100.0	25.4	100.0	18.3	100.0
Elbasvir	0.1	0.4	NR	1.0	NR	1.1	0.3	1.8 ^c	9.5	0.8	NR	1.2	1.4
	0.5	0.7	NR	1.0	0.4	1.2	0.5	1.5	5.1	0.5	NR	1.3	1.9
	1	0.6	NR	1.0	0.4	1.3	0.8	1.3	3.9	1.0	0.2	1.5	2.7
	5	0.6	NR	1.2	2.1	1.6	1.5	1.8	8.9	0.8	NR	1.9	5.0
	10	0.8	NR	1.4	3.1	1.7	1.7	2.3	14.6	1.4	1.7	1.7	4.2
	20	1.3	0.7	1.8	6.8	1.8	2.2	2.3	15.0	1.2	0.7	2.4	8.2

エルバスビルは CYP1A2 に対して有意な誘導を示さなかった [エルバスビル0.1～20 µM を肝細胞 (n=3ロット) とインキュベーションしたとき、mRNA 及び酵素活性の増加率 (%) の平均値は、陽性対照のオメプラゾール (50 µM) と比べて20%未満であった]。

a： 対照の溶媒に対する変化の割合の平均値 (n=3)

b： 対照の溶媒で補正した陽性対照のオメプラゾールに対する誘導の割合 (%)

c： 1例が外れ値であったため、2例の平均値を示した。

NR： 対照の溶媒よりも反応が弱かったため、報告せず。