2.4 非臨床試験の概括評価

目次

2.4 非臨床試験の概括評価 1
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 試験計画 5
2.4.1.2 GLP 等ガイドラインの適用 8
2.4.1.3 被験物質の品質 8
2.4.1.3.1 グレカプレビルの品質 8
2.4.1.3.2 ピブレンタスビルの品質 9
2.4.2 薬理試験 10
2.4.2.1 グレカプレビル及びピブレンタスビルの特異性 12
2.4.2.2 副次的薬理試験 12
2.4.2.3 安全性薬理試験 13
2.4.3 薬物動態試験 14
2.4.3.1 吸収 14
2.4.3.2 分布 15
2.4.3.3 代謝 16
2.4.3.4 排泄 19
2.4.3.5 薬物動態学的相互作用 20
2.4.4 毒性試験 24
2.4.4.1 グレカプレビル 24
2.4.4.2 ピブレンタスビル 28
2.4.4.3 光毒性試験 31
2.4.4.4 非臨床試験データのヒトへの外挿性 31
2.4.5 総括及び結論 32
2.4.5.1 グレカプレビル及びピブレンタスビルの特徴 32
2.4.5.1.1 グレカプレビルの安全性 32
2.4.5.1.2 ピブレンタスビルの安全性 33
2.4.5.2 まとめ 34
2.4.6 参考文献一覧 39

表一覧

表 2.4-1. *in vitro* ウイルス活性試験一覧 12
表 2.4-2. グレカプレビルの安全性薬理試験 13

表 2.4-3. ピブレンタスビルの安全性薬理試験 14
表 2.4-4. 吸収：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験 15
表 2.4-5. 分布：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験 16
表 2.4-6. 代謝：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験 19
表 2.4-7. 排泄：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験 20
表 2.4-8. 薬物動態学的薬物相互作用：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験 21
表 2.4-9. 生体試料中濃度測定のバリデーション方法 22
表 2.4-10. 経口投与後定常状態での血漿中グレカプレビル代謝物プロファイル 23
表 2.4-11. 経口投与後定常状態での血漿中ピブレンタスビル代謝物プロファイル 24
表 2.4-12. グレカプレビル毒性試験プログラム 27
表 2.4-13. ピブレンタスビル毒性試験プログラム 30
表 2.4-14. グレカプレビル：主要な毒性試験の概要 37
表 2.4-15. ピブレンタスビル：主要な毒性試験の概要 38

図一覧

図 2.4-1. グレカプレビルのトキシコキネティクス 7
図 2.4-2. ピブレンタスビルのトキシコキネティクス 8
図 2.4-3. マウス，ラット，イヌ及びヒト血漿中に認められた代謝物に基づくグレカプレビル（ABT-493）の推定生体内変換経路 17
図 2.4-4. マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるピブレンタスビル（A-1325912）の推定生体内変換経路 18
図 2.4-5. グレカプレビルの無毒性量，毒性量，及び臨床投与量における曝露量 33
図 2.4-6. ピブレンタスビルの無毒性量，毒性量，及び臨床投与量における曝露量 34

略語表

略語	省略しない表現（英語）	省略しない表現（日本語）
AME	absorption metabolism excretion	吸収，代謝，排泄
ADME	absorption distribution metabolism excretion	吸収，分布，代謝，排泄
AUC	area under the curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DAA	direct-acting antiviral agent	直接作用型抗ウイルス剤
DDI	drug-drug interaction	薬物間相互作用
EC_{50}	50% of the maximal effective concentration	50%有効濃度
f_u	fraction unbound	非結合型分率
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令
HCV	hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
IC_{50}	concentration required for 50% inhibition	50%阻害濃度
ICH	International Committee on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
NS	non structural	非構造
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anioin 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-gp	P-glycoprotein	P 糖たん白質
QD	once a day (Latin, quarter in die)	1 日 1 回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー

2.4.1 非臨床試験計画概略

グレカプレビル及びピブレンタスビルは C 型肝炎ウイルス（以下「HCV」）感染患者に対して併用投与する直接作用型抗ウイルス薬（以下「DAA」）である。グレカプレビルは HCV 非構造（以下「NS」）3，NS4A，NS4B，NS5A 及び NS5B たん白質）の酵素切断に必須で，HCV 複製に不可欠な NS3/4A プロテアーゼの阻害剤である。ピブレンタスビルは，HCV 複製に必須な HCV NS5A の阻害剤である。主要な薬理試験，薬物動態試験，毒性試験はそれぞれの DAA の単剤投与にて実施した。グレカプレビルは報告書等の他の文書では ABT-493 又は A-128257 として，ピブレンタスビルは ABT-530 又は A-1325912 として記載されることもある。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態をマウス（CD-1，TgHras），ラット（SD），New Zealand white（以下「NZW」）ウサギ，ビーグル犬，カニクイザル及びヒトで評価した。いずれの評価化合物も脂溶性であり，水溶性はごくわずかであり，すべての毒性評価動物において剤形及び用量の影響を検討して最大曝露量を決定した。すべての種において，試験によりグレカプレビル及びピブレンタスビルの代謝経路並びに単回投与後及び定常状態における循環血漿中代謝物を明らかにした。グレカプレビル又はピブレンタスビルいずれにおいても，主代謝物（血漿中薬物関連物質の 10%を超えるものと定義）は存在しなかった。放射能標識体を用いた試験により，主な毒性評価動物種及びヒトの排泄パターン，雄性ラットにおける組織内分布及び妊娠ラットにおける乳汁 / 胎盤移行が示された。蛋白結合の濃度依存性及び種差並びに特別な集団（肝機能障害及び腎機能障害）における変動が評価された。非臨床試験及び臨床試験において，グレカプレビル及びピブレンタスビルの CYP，UGT 及びトランスポーターによる薬物間相互作用（以下「DDI」）を受ける側及び与える側としてのポテンシャルが評価された。

グレカプレビルの安全性を評価するために，ラット（最長 26 週間），野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2JIC マウス（最長 4 週間）及びイヌ（最長 39 週間）の反復投与毒性試験を実施した。ピブレンタスビルでは，ラット（最長 13 週間），野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2JIC マウス（最長 4 週間），CD-1 マウス（最長 26 週間）及びイヌ（最長 39 週間）の反復投与毒性試験を実施した。両化合物については，*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験（受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，胚・胎児発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験）を実施した。グレカプレビルでは有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験を実施したが，ピブレンタスビルでは *in vitro* 光毒性試験の陰性結果に基づいて実施しなかった。グレカプレビル関連の不純物はラット及びイヌの 13 週間反復投与毒性試験で評価した結果に基づいて，規格を設定した。ピブレンタスビル関連の不純物の規格は，マウス及びイヌの反復投与毒性試験，並びに不純物の評価用に実施したマウスの 4 週間反復投与毒性試験の結果に基づいて決定した。

2 つの非遺伝毒性不純物（ R* 及び S* ）が ICH ガイドラインの閾値を上回ったが，ラット及びイヌの 13 週間反復投与毒性試験により安全性が確保された。*In silico* の構造活性相関により変異原性警告構造がみられた不純物の GLP 遺伝毒性試験も実施した。さらに，*in vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験を実施した。グレカプレビルの臨床適用投与経路に従い，投与経路は経口投与を用いた。

*新薬承認情報提供時に置き換え

グレカプレビル及びピブレンタスビルの中枢系，心血管系及び呼吸器系に対する安全性薬理試験を実施した。

将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，グレカプレビル及びピブレンタスビルの野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた反復投与毒性試験を実施した。しかし，グレカプレビル及びピブレンタスビルの臨床適用投与期間が 6 ヵ月間未満（8 週間又は 12 週間を予定）であり，遺伝毒性試験及び反復投与毒性試験からも懸念される変化がみられていないことから，がん原性試験を実施していない。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの主要な反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量とヒトの臨床予想投与量を非肝硬変患者又は肝硬変患者に投与した際の曝露量（グレカプレビルの 300 mg における非肝硬変患者及び肝硬変患者の AUC_{0-24h} はそれぞれ 11.6 及び 30.4 μg•hr/mL；ピブレンタスビルの 120 mg における非肝硬変患者及び肝硬変患者の AUC_{0-24h} は 2.83 μg•hr/mL）を表 2.4-14 及び表 2.4-15 に示す。

2.4.1.1 試験計画

経緯

グレカプレビル及びピブレンタスビルの併用投与による HCV 感染患者に対する DAA（8 週間又は 12 週間投与を予定）の承認申請資料の収集を目的とした，非臨床試験として薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験を実施した。薬理試験では，薬効薬理試験，副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。薬物動態試験では，単回及び反復投与薬物動態試験，到達可能な最大曝露量の評価，血漿中及び排泄物中代謝物の同定及びプロファイリング，組織及び血漿への分布及び薬物相互作用ポテンシャルの非臨床評価を実施した。毒性試験では，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，光毒性試験を実施した。主要な安全性薬理試験及び毒性試験並びにトキシコキネティクスは医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（以下「GLP」）に準拠して実施した。GLP 試験適用の有無については 2.6.2 項及び 2.6.6 項に示す。非臨床試験は全般的に ICH ガイドラインに従って実施した。その他，幼若動物の毒性試験及び併用投与毒性試験に実施については，外国の規制当局と討議した。

小児と成人との間に差が認められることが懸念される毒性所見は確認されていないため，また，小児と成人においては 2 剤の DAA の代謝に差がないと予測されることから，幼若動物を用いた毒性試験は行わなかった。

米国医薬品食品局（以下「FDA」）のガイダンス（案）[1]では，HCV に対する DAA の併用投与が既存の承認薬を上回る治療効果を示す場合，各薬剤で類似した毒性や管理不能な毒性が発現する懸念がない場合，及び安全域が十分確保されている場合は，併用投与による毒性試験の実施は必須とはされていない。日米 EU 医薬品規制調和国際会議（以下「ICH」）M3（R2）Q&A 集［「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集（Q&A）］では，「C 型肝炎治療のための抗ウイルス薬についても，通常，配合剤の毒性試験は必要とされない」と記載されている。グレカプレビル及びピブレンタスビルにおいては各薬剤で実施した毒性試験において類似した毒性はみられてい

ないことから，併用毒性試験を実施していなかったが，ロシア当局との相談後，併用投与毒性試験として，グレカプレビル及びピブレンタスビルの配合錠のラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験を実施した。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの臨床適用投与期間が 6 ヵ月間未満（8 週間又は 12 週間を予定）であり，遺伝毒性試験及び反復投与毒性試験からも懸念される変化がみられていないことから，がん原性試験を実施していない。

動物種

グレカプレビルの毒性は CByB6F1 Tg(HRAS)2JIC（以下「TgHras」）マウス，SD ラット及びビーグル犬を用いて検討した。反復投与毒性試験に用いる動物種として，到達可能な最大曝露量がマウスとラットでは同様であったことからげっ歯類としてラットを，サルと比較し高い曝露量が得られることから非げっ歯類としてイヌを選択した。また，TgHras マウスは将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，反復投与毒性試験を実施した。生殖発生毒性試験では SD ラット及びNZW ウサギを用いて実施した。

ピブレンタスビルの毒性は CD-1 マウス，TgHras マウス，SD ラット及びビーグル犬を用いて検討した。CD-1 マウス及びビーグル犬はラットやサルと比較して全身曝露量が高かったことから，これらを主要な毒性試験の動物種として選定した。また，TgHras マウスは将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，反復投与毒性試験を実施した。生殖発生毒性試験では，CD-1 マウス及びNZW ウサギを用いて実施した。

グレカプレビルの投与量

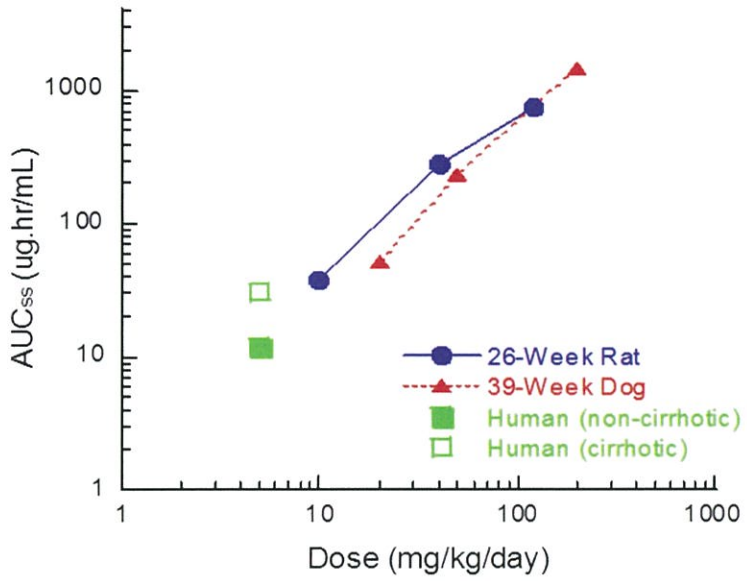
一般毒性試験において使用した投与可能な最大用量を，複数の溶媒，投与方法を用いて，グレカプレビルの薬物動態学プロファイルを比較した（R&D/13/1122）。グレカプレビルは高親油性を示すため，水溶性の溶媒の検討を実施しなかった。溶媒の検討には 3 種類の脂質系の溶媒（PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124 ; PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124+1 eqNaOH ; Phosal 50PG:Soluphor P:Cremophor RH40）及び非晶質固体分散体（Tween 20:Poloxamer 124:Copovidone）を検討した。その結果，投与可能な最大曝露量は，PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124 で得られた。したがって，ラット及びイヌの毒性試験ではこの溶媒を使用した。

この溶媒である PEG-400: Tween 20: Poloxamer 124 は非妊娠ウサギに対しては，5 日間の反復投与までは忍容性を示した。しかし，妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験で妊娠 8 日（投与 2 日）から母体毒性である摂餌量の減少を伴う体重減少が対照群を含めた全群でみられた。

ウサギ用の溶媒について，米国アッヴィ社でこれまでに妊娠ウサギの試験で使用している溶媒（Ethanol: PEG-400: Phosal 53 MCT ; Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 ; 非晶質固体分散体の懸濁液 ; Tween 20: Poloxamer 124: Copovidone）を 7.5 mL/kg の投与容量で検討した。その結果，妊娠ウサギにおける良好な忍容性及び薬物動態学的パラメータに基づいて，ethanol: PEG-400: Phosal 53 MCT をウサギの胚・胎児発生に関する試験で選択した。

グレカプレビルの高用量は，投与可能な最大用量を用いた（R&D/13/1122）。グレカプレビルの一般毒性試験及びヒトにおける定常状態の曝露量を図 2.4-1 に示す。

図 2.4-1. グレカプレビルのトキシコキネティクス



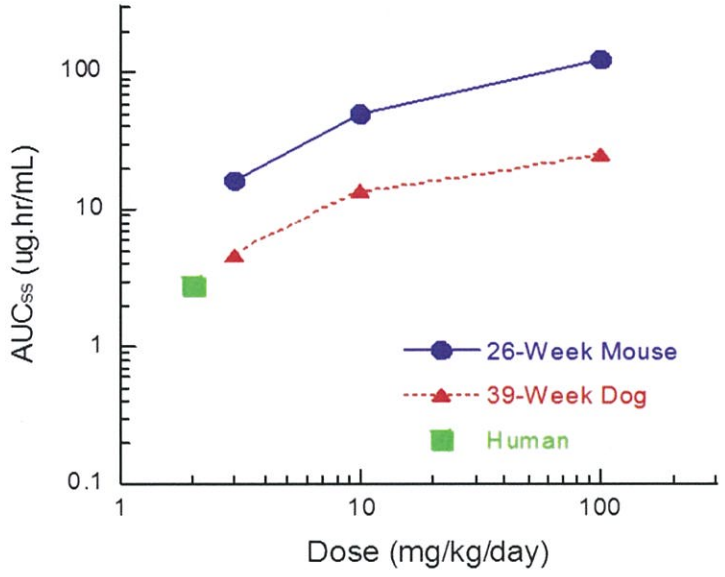
ピブレンタスビルの投与量

ピブレンタスビルは高分子量（1113.18）の脂溶性化合物（logD 5.7）であり，生理的な pH で水性製剤における溶解性（<0.8 μg/mL）わずかである。脂質 / 界面活性剤を含有する非水性製剤においては，溶解性が高まる（>150 mg/mL）。米国アッヴィ社が合成した他の NS5A と同様の物理化学的性質のため，すべての化合物において脂質性が高く，溶解度が低く，高い曝露量が得られないと考えられたため，水溶懸濁液による薬物動態試験は実施されていない。一連の脂質系溶媒及び非晶質固体分散体をマウス，ラット，ウサギ及びイヌで用いて溶媒を検討した。ICH M3（R2）ガイドライン Q&A にしたがい，2，3 種の脂質系溶媒及び非晶質の固体分散体，合計で 3 種の溶媒を 4 種の動物種で検討した。ラットで極端に曝露量が低かったものを除き，過去に開発した化合物の結果に従って，初期の溶媒を用いて CD-1 マウスを用いて検討試験を開始した。曝露量における種差を確認した結果，反復投与毒性試験に用いるげっ歯類としてマウスを選択した。マウスにおいては，3 種類の水溶懸濁液を用いてピブレンタスビルを投与した結果，曝露量は脂質系 / サーファクタントから得られた曝露量よりも高くなかった。もっとも高い曝露量は Vitamin E TPGS の非晶質固体分散体を用いた場合であった。Vitamin E TPGS は長期反復投与毒性試験では適切ではないことから，別の検討結果から，Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40（質量比，40 : 20 : 20 : 20）をマウス，ラット，ウサギ及びイヌ

の溶媒として選択した。ピブレンタスビルの毒性試験の高用量は，ラットの最長 13 週間（30 mg/kg/日），マウスの最長 26 週間（100 mg/kg/日），イヌの最大 39 週間（100 mg/kg/日）の反復投与毒性試験において，投与可能な最大用量を設定した。生殖発生毒性試験（マウス及びウサギ）においても同様に投与可能な最大用量が用いられた。ピブレンタスビルの投与可能な最大用量の検討については R&D/13/1113 に示す。

ピブレンタスビルの一般毒性試験及びヒトにおける定常状態の曝露量を図 2.4-2 に示す。

図 2.4-2.　　ピブレンタスビルのトキシコキネティクス



2.4.1.2　　GLP 等ガイドラインの適用

毒性試験及び安全性薬理試験については，ICH M3（R2）ガイドライン「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」及び安全性評価に関する ICH ガイドラインに従って実施した。また，主要な毒性試験及び安全性薬理試験は GLP に準拠して実施した。

2.4.1.3　　被験物質の品質

2.4.1.3.1　　グレカプレビルの品質

非臨床試験では純度が 93%以上のグレカプレビル原薬を使用した。0.10%の濃度の 2 種類の不純物（　S*　及び　R*　）が特定された。これらの不純物はラット及びイヌの 13 週間反復投与毒性試験で用いた被験物質に含まれており，ヒトの予想摂取量との比較から安全性が確保された。

*新薬承認情報提供時に置き換え

これらの不純物は 2 種類の *in silico* 構造活性相関予測モデル（[redacted] 及び [redacted]）を用いて変異原性の警告構造を評価した。その結果，これらの不純物はグレカプレビルと同じ構造骨格により警告構造を有した。これらの不純物は変異原性誘発能を示さなかったグレカプレビルの *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で使用した原薬に含まれていた。したがって，これらの警告構造はグレカプレビルと同様に変原性誘発能を有さないと考えられた。グレカプレビルの原薬及びグレカプレビル / ピブレンタスビルの製剤の規格設定値に関しては第 3 部を（グレカプレビルの 3.2.S.2.6 項，3.2.S.4.1 項及び 3.2.S.4.5 項並びにグレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.1 項及び 3.2.P.5.6 項）に示す。

ICH M7 ガイドラインに従って，グレカプレビルの原薬製造工程に潜在する可能性のある変異原性不純物は許容限度値，発がん性不純物は許容 1 日曝露量以下で管理する。

2.4.1.3.2 ピブレンタスビルの品質

非臨床試験では純度が 97.8%以上のピブレンタスビルを使用した。0.15%以上含有される可能性がある不純物が特定された。そのうち 2 つの不純物は分解物（ O* , P* ）であった。これらの原薬不純物は，マウスの 26 週間及びイヌの 39 週間反復投与毒性試験で評価された。アミン分解物（ Q* ）はマウスの 4 週間反復投与毒性試験で評価した。

7 つの不純物を 2 つの *in silico* 構造活性相関予測モデル（[redacted] 及び [redacted]）を用いて変異原性の警告構造を評価した結果，1 種類の構造活性モデル（[redacted]）でピブレンタスビルと同様の警告構造を有した。すなわち，これらの不純物は，ピブレンタスビルと同じ構造骨格により警告構造を有した。ピブレンタスビルが変異原性誘発能を示さなかったことから，これらの不純物も同様に変異原性を有さないと考えられた。 P* はピブレンタスビルとは異なる警告構造を有した。この警告構造は，警告構造のトレーニングセットを専門家が分析した結果，変異原性の懸念がないと結論づけられた。したがって，7 つすべての不純物は ICH Q3A の従った不純物として管理する。

ピブレンタスビルの 1 日投与量（120 mg）とそれぞれの規格値に従う場合，原薬及び製剤中のこれらの不純物の摂取量は，1 mg/日未満となる。変異原性の懸念がなく，1 日の摂取量が 1 mg/日未満であることから，ICH M7 ガイドラインに従って，これらの不純物の遺伝毒性試験は不要となる。不純物の規格値については第 3 部に示す（ピブレンタスビルの 3.2.S.4.1 項及びグレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.1 項，ピブレンタスビルの 3.2.S.4.5 項及びグレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.6 項，並びにピブレンタスビルの 3.2.S.2.6 項）

AU* （Unknown N/Stage 6 T* ）は，ピブレンタスビルの原薬に [redacted]%以下に含まれる個別規格設定不純物である。この不純物は，1 種類の構造活性モデル（[redacted]）で変異原性の警告構造を有した。その後に実施した復帰突然変異試験（Ames 試験）において，変異原性を有さなかった（2.6.6.8.2.4 項）

U* はピブレンタスビルのイソシアネート分解物であり，製剤の製造工程でみられる。この分解物は，安定性試験，人工胃腸液等，水の存在下で速やかにアミン（ Q* ）に加水分解される（グレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.6 項）。イソシアネートは速やかにアミンに加水分解され，吸収されないことから，患者が曝露される不純物はアミンに限定さ

*新薬承認情報提供時に置き換え

れる。アミン分解物の安全性はマウスの 4 週間反復投与毒性試験で担保される（2.6.6.8.2.2 項）ピブレンタスビルのイソシアネート分解物である U* は [redacted] 及び [redacted] で警告構造を有した。GLP の復帰突然変異試験で，U* は変異原性誘発能を有さなかった

ICH M7 ガイドラインに従って，ピブレンタスビルの原薬製造工程に潜在する可能性のある変異原性不純物は許容限度値，発がん性不純物は許容 1 日曝露量以下で管理する。

2.4.2 薬理試験

グレカプレビルは，HCV をコードする複合たん白質（非構造［以下「NS」］3，NS4A，NS4B，NS5A 及び NS5B たん白質）の酵素切断に必須で，HCV 複製に不可欠な NS3/4A プロテアーゼの阻害剤である。ピブレンタスビルは，HCV 複製に必須な HCV NS5A の阻害剤である。グレカプレビル及びピブレンタスビルの *in vitro* 抗ウイルス特性を評価した試験の一覧を表 2.4-1 に示す。

HCV プロテアーゼ阻害剤であるグレカプレビルについて，精製 NS3 プロテアーゼを用いた酵素阻害試験において，グレカプレビルは，HCV ジェノタイプ 1a，1b，2a，2b，3a，4a，5a 及び 6a 由来の精製 NS3 プロテアーゼを阻害し，50%阻害濃度（以下「IC_{50}」）値は，それぞれ，4.6，8.9，3.5，3.8，7.9，6.1，8.1 及び 11.3 nM であった。グレカプレビルは，HCV サブゲノムレプリコン細胞において，HCV 複製を阻害し，ジェノタイプ 1a-H77，1b-Con1，2a-JFH1 及びジェノタイプ 2b，3a，4a 及び 6a 由来 NS3 遺伝子を導入したキメラレプリコンに対する 50%有効濃度（以下「EC_{50}」）は，それぞれ，0.85，0.94，2.2，4.6，1.6，2.8 及び 0.86 nM であった。HCV ジェノタイプ 1a，1b，2a，2b，3a，4a，4d 及び 5a 感染患者 40 例から得られた標本について，HCV NS3 プロテアーゼ遺伝子を導入した一過性レプリコンにより検討した結果，グレカプレビルは抗ウイルス活性を示し，EC_{50} の中央値は 0.30 nM（0.05-3.8 nM）であった。グレカプレビルは，HIV-1 又は HBV に対して抗ウイルス活性を示さなかった。HIV-1 プロテアーゼであるロピナビル及びダルナビルはグレカプレビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさず，また，グレカプレビルはロピナビル及びダルナビルの抗 HIV-1 活性に影響を及ぼさなかった。

NS3 領域の耐性発現の検討において，グレカプレビル存在下で HCV ジェノタイプ 1a，1b，2a 及び 4a レプリコン細胞を継代培養したとき検出されたアミノ酸変異は A156T 及び A156V であった。HCV ジェノタイプ 3a レプリコンにおいて，生存コロニーより検出された変異は A156G 又は Y56H + Q168R であった。HCV ジェノタイプ 6a レプリコンにおいて，検出された変異は，D168H 又は D168V であった。156 位の変異によりグレカプレビルの活性は野生型と比較して 148 分の 1 から 3106 分の 1 に低下したが，NS3 領域のアミノ酸 36，43，54，55，56，80 又は 155 位の単変異に対してグレカプレビルは抗 HCV 活性を示した。ジェノタイプ 2a 及び 2b レプリコンにおいて，168 位の変異によりグレカプレビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさなかったが，ジェノタイプ 1a，1b，3a 及び 4a レプリコンにおいて，168 位の変異によりグレカプレビルの抗 HCV 活性は野生型の 3 分の 1 から 55 分の 1 に低下した。ジェノタイプ 1a，1b，3a 及び 4a レプリコンにおいて，168 位の変異によりグレカプレビルの抗 HCV 活性は野生型の 3 分の 1 から 55 分の 1 に低下した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

ジェノタイプ 6a レプリコンにおいて，168 位の変異によりグレカプレビルの抗 HCV 活性は，野生型の 38 分の 1 から 191 分の 1 に低下した。

ピブレンタスビルは，HCV サブゲノムレプリコン細胞において，HCV 複製を阻害し，ジェノタイプ 1a-H77，1b-Con1，2a-JFH1 及びジェノタイプ 2b，3a，4a，5a 及び 6a 由来 NS5A 遺伝子を導入したキメラレプリコンに対する EC_{50} は，それぞれ，1.8，4.3，2.3，1.9，2.1，1.9，1.4 及び 2.8 pM であった。HCV ジェノタイプ 1a，1b，2a，2b，3a，4a，4b，4d，6a，6e 又は 6p 感染患者 74 例から得られた標本について，HCV NS5A 遺伝子を導入した一過性レプリコンにより検討した結果，ピブレンタスビルは抗ウイルス活性を示し，EC_{50} の中央値は 1.1 pM（0.27-3.5 pM）であった。ピブレンタスビルは，抗 HIV-1 及び抗 HBV 活性を示さなかった。

EC_{50} の 10 倍量のピブレンタスビル存在下で HCV ジェノタイプ 1b，2b，4a，5a 及び 6a レプリコン細胞を継代培養したとき，いずれのジェノタイプに対して生存コロニーは検出されなかった。EC_{50} の 10 倍量のピブレンタスビル存在下で HCV ジェノタイプ 1a 及び 3a レプリコンにおいて検出された変異は Y93H で，HCV ジェノタイプ 2a レプリコンにおいて検出された 3 生存コロニーに含まれる変異は，F28S + M31I 又は P29S + K30G であった。ジェノタイプ 1a において，Y93H/N 変異によりピブレンタスビルの抗 HCV 活性は 7 分の 1 に低下したが，ジェノタイプ 1b においてはピブレンタスビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさなかった。ジェノタイプ 1 において，その他のアミノ酸 93 位の変異は，ピブレンタスビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさなかった。ジェノタイプ 3a において，臨床で検出された主要なベースライン変異は，A30K 又は Y93H 変異で，それぞれ単独ではピブレンタスビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさなかったが，これらの共変異によりピブレンタスビルの抗 HCV 活性は 69 分の 1 に低下した。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの併用により評価した用量群の組合せでは相加又は相乗効果を示した。HCV ジェノタイプ 1a-H77 レプリコンにおいて，グレカプレビル及びピブレンタスビルを各 EC_{50} の 10 倍量又は 100 倍量を添加したとき，生存コロニーは検出されなかったことから，併用によりグレカプレビル及びピブレンタスビルを単独で各 EC_{50} の 10 倍量したときと比べ，65 倍超の抗ウイルス活性を示した。薬効薬理試験に関する詳細は，2.6.2.2 項に記載する。

表 2.4-1. *in vitro* ウイルス活性試験一覧

Test System	Compound	Study Report	Module 4
Biochemical assays: HCV and mammalian proteases (activity and selectivity)	Glecaprevir	R&D/16/0964 R&D/12/716	4.2.1.1-1 4.2.1.1-2
Replicon cell culture: Activity against HCV genotypes 1-6, resistance selection assays, cell culture cytotoxicity assays	Glecaprevir	R&D/12/716 R&D/16/0568 R&D/16/0964	4.2.1.1-2 4.2.1.1-3 4.2.1.1-1
Replicon cell culture: Activity against HCV genotypes 1-6, resistance selection assays, cell culture cytotoxicity assays	Pibrentasvir	R&D/12/717 R&D/16/0567 R&D/16/0964	4.2.1.1-6 4.2.1.1-7 4.2.1.1-1
Cell culture: Activity against HIV-1 and HBV	Glecaprevir, Pibrentasvir	R&D/12/716 R&D/12/717	4.2.1.1-2 4.2.1.1-6
Cell Culture: Impact of ABT-493 on anti-HIV-1 activity of lopinavir and darunavir; impact of lopinavir and darunavir on anti-HCV activity of ABT-493	Glecaprevir	R&D/16/0569	4.2.1.4-1
Cell culture: Two-drug combinations studies	Glecaprevir, Pibrentasvir	R&D/13/030	4.2.1.1-5
Cell culture: Activity against replicons containing amino acid substitutions in NS3 or NS5A	Glecaprevir, Pibrentasvir	R&D/16/0961	4.2.1.1-4
Cell culture: In vitro cross resistance studies	Glecaprevir, Pibrentasvir	R&D/12/716 R&D/12/717 R&D/16/0961	4.2.1.1-2 4.2.1.1-6 4.2.1.1-4

2.4.2.1 グレカプレビル及びピブレンタスビルの特異性

代表的なヒトプロテアーゼに対して，グレカプレビルの NS3/4A プロテアーゼ活性は，10000 倍以上の選択性を示した。グレカプレビルの MTT アッセイにおける細胞毒性の中央値は 72000 nM であったことから，*in vitro* 選択性は，10000 倍超であった。ピブレンタスビルの MTT アッセイにおける細胞毒性の中央値は 32000000 pM であったことから，*in vitro* 選択性は，1000000 倍超であった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験として，典型的な G たん白質共役受容体及びイオンチャンネルに対するグレカプレビル及びピブレンタスビルの結合性を検討した（表 2.4-2，表 2.4-3）。グレカプレビル（10 μM）により 50%を超えるリガンド特異的結合の置換は，クロライドチャネルでみられ，IC_{50} は 11 μM であった。中枢神経系に及ぼす影響を評価した試験においてクロライドチャネル

阻害に起因した作用は認められていない。ピブレンタスビル（10 μM）により 50%を超えるリガンド特異的結合の置換はみられなかった。これらの結果から，グレカプレビル及びピブレンタスビルは，ヒトにおいていずれも典型的な G たん白質共役受容体及びイオンチャンネルを介した作用を示さないと考えられた。

副次的薬理試験に関する詳細は，2.6.2.3 項に記載する。

2.4.2.3 安全性薬理試験

グレカプレビル及びピブレンタスビルについて，一連の安全性薬理試験項目（中枢神経系，心血管系及び呼吸系）に及ぼす影響を検討した（表 2.4-2，表 2.4-3）。グレカプレビルは，中枢神経系及び心血管系に影響を及ぼさなかったが，評価した最高用量である 60mg/kg で呼吸数及び 1 回換気量にわずかな変化がみられたが，1 分間換気量には変化がみられなかった。ピブレンタスビルは，中枢神経系，心血管系に及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。安全性薬理試験に関する詳細は，2.6.2.4 項に記載する。

表 2.4-2. グレカプレビルの安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species	Method of Administration	Doses or Concentrations	Study Report	Module 4
Binding Assays	Receptors, ion channels, transporters	In vitro	10 μM 0.1-30 μM	R&D/12/708 R&D/16/0981	4.2.1.2-1 4.2.1.2-2
CNS/Neurobehavioral					
Irwin, Locomotor, Pro-convulsant Activity and Ethanol Interaction Tests	Rat	Oral	3, 10, 30, 100 mg/kg	R&D/11/999	4.2.1.3-1
Functional Observational Battery (FOB)	Rat	Oral	5, 20, 60 mg/kg	R&D/11/1267	4.2.1.3-2
Cardiovascular					
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	24.7 μg/mL	R&D/12/698	4.2.1.3-3
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	8.4, 25, 84 μg/mL	R&D/16/0250	4.2.1.3-4
Anesthetized Dog	Dog	Intravenous	1.7, 5.5, 16.6 mg/kg/30 min	R&D/12/643	4.2.1.3-5
Conscious Dog	Dog	Oral	10, 30, 100 mg/kg	R&D/11/1269	4.2.1.3-6
Respiratory	Rat	Oral	5, 20, 60 mg/kg	R&D/11/1268	4.2.1.3-7

表 2.4-3. ピブレンタスビルの安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species	Method of Administration	Doses or Concentrations	Study Report	Module 4
Binding Assays	Receptors, ion channels transporters	In vitro	10 μM	R&D/12/750	4.2..1.2-3
CNS/Neurobehavioral					
Locomotor Activity	Mouse	Oral	0.6, 2, 6, 20, 60 mg/kg	R&D/11/1000	4.2.1.3-8
Functional Observational Battery (FOB)	Mouse	Oral	3, 10, 100 mg/kg	R&D/12/371	4.2.1.3-9
Cardiovascular					
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	0.51 μg/mL	R&D/12/699	4.2.1.3-10
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	1.11 μg/mL	R&D/16/0251	4.2.1.3-11
Anesthetized Dog	Dog	Intravenous	56, 187, 562 μg/kg/30 min	R&D/12/664	4.2.1.3-12
Conscious Dog	Dog	Oral	3, 10, 100 mg/kg	R&D/12/373	4.2.1.3-13
Respiratory	Mouse	Oral	3, 10, 100 mg/kg	R&D/12/372	4.2.1.3-14

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

グレカプレビルは分子量の大きい（mw 838.87），脂溶性の化合物（logD 2.5）で水に対する溶解度は低く（<0.6 mg/mL），受動的透過性は低いか中等度（見かけの膜透過係数［以下「P_{app}」］） 1.4 × 10^{-6} cm/s）である。脂質 / 界面活性剤を含む非水系の剤形においてより高い溶解度（100–300 mg/mL）が得られる。胆管カニューレを施した雄性 Sprague-Dawley ラットにおいて，[^{14}C]グレカプレビルの投与量の少なくとも 65%が吸収された。溶液製剤でのグレカプレビルのバイオアベイラビリティの値は，マウス及びラットで 90%よりも高かったが，イヌでは 43.9%，サルでは 26.0%と低かった。剤形スクリーニングにより，1 当量の水酸化ナトリウムを含む PEG-400 : Tween 20 : Poloxamer 124（70 : 20 : 10，質量比）の脂質溶液が，非臨床動物種での 1 日 2 回の反復投与において最大曝露量に到達することが特定された。ラット，ウサギ及びイヌにおいて最適化した脂質をベースとした溶液製剤から得られた血漿曝露量は，10–100 mg/kg の間でおおむね線形の AUC の増加が認められたが，用量を更に増加させても AUC の顕著な増加は認められなかった。マウス，ラット及びイヌにおいてグレカプレビルの曝露量に明白な性差はなく，3 種いずれにおいても，毎日の反復投与に伴う明らかな蓄積は認められなかった。マウス，ラット及びイヌにおいて，グレカプレビルは肝臓に高濃度分布し，肝臓曝露量は血漿曝露量の 10–100 倍高かった（表 2.4-4 ; 2.6.4.3.1 項）。

ピブレンタスビルは分子量の大きい（mw 1113.18），脂溶性の化合物（logD 5.7）であり，生理的な pH における水に対する溶解度は検出限界未満（<0.8 μg/mL）である。脂質 / 界面活性剤を含む非水系の剤形においてより高い溶解度（>150 mg/mL）が得られる。ピブレンタスビルの *in vitro* での受動的透過性は低く（P_{app} <1 × 10^{-6} cm/s），溶液製剤の低用量における経口システミックバイオアベイラビリティは，マウスの 8.8%からイヌの 29.8%の範囲であった。胆管カニューレを施したラットにおいて，[^{3}H]ピブレンタスビルの経口投与量の約 3.2%が吸収された。最適化した脂質をベースとした溶液製剤により，マウス及びイヌにおいて定常状態最大曝露量が得られ，その曝露量は目標臨床曝露量よりも約 15–50 倍高かった。マウス又はイヌにおいて明らかな性差は認められなかった。マウスに反復投与後，蓄積は認められなかった。イヌにおいて半減期及び日ごとの投与間隔に則した蓄積により，毎日の反復投与後にわずかに高い曝露量が得られた（表 2.4-4；2.6.4.3.2 項）。

表 2.4-4.　　吸収：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験

Test System	Compound	Study Report	Module 4
Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Monkey Single Dose Pharmacokinetics	Glecaprevir	R&D/12/622	4.2.2.2-4
Mouse, Rat, Rabbit, Dog Maximum Feasible Exposures	Glecaprevir	R&D/13/1122	4.2.2.2-6
Transporter Knockout Mice	Glecaprevir	1282576-memo-02	4.2.2.2-2
Oral Co-Dosing in Rat	Glecaprevir/Pibrentasvir	1282576-memo-25	4.2.2.7-1
[^{14}C]Glecaprevir Rat ADME	Glecaprevir	R&D/12/621 1282576-memo-20	4.2.2.2-3 4.2.2.4-4
[^{14}C]Glecaprevir Dog ADME	Glecaprevir	1282576-memo-24	4.2.2.4-5
[^{14}C]Glecaprevir Human AME	Glecaprevir	R&D/15/0354	4.2.2.5-1
Mouse, Rat, Rabbit, Dog, Monkey Single Dose Pharmacokinetics	Pibrentasvir	R&D/12/631	4.2.2.2-10
Mouse, Rat, Rabbit, Dog Maximum Feasible Exposures	Pibrentasvir	R&D/13/1113	4.2.2.2-11
[^{14}C]Pibrentasvir Mouse ADME	Pibrentasvir	R&D/16/0370	4.2.2.4-12
[^{3}H]Pibrentasvir Rat ADME	Pibrentasvir	R&D/12/634	4.2.2.2-9
[^{14}C]Pibrentasvir Rat ADME	Pibrentasvir	1325912-memo-16	4.2.2.4-14
[^{14}C]Pibrentasvir Dog ADME	Pibrentasvir	1325912-memo-18	4.2.2.4-17
[^{14}C]Pibrentasvir Human ADME	Pibrentasvir	R&D/15/0354	4.2.2.5-1

2.4.3.2　　分布

グレカプレビル及びピブレンタスビルの蛋白結合を，非臨床毒性評価動物種及びヒトの血漿を対象として，グレカプレビル及びピブレンタスビルの治験における平均臨床血漿中濃度を含む濃度範囲で測定した。いずれの化合物も血漿蛋白結合率は高かった。グレカプレビル及びピブレンタスビル併用レジメンの治療用量で観測された C_{max} に近い濃度で，グレカプレビル及びピブレンタスビルの非結合型分率は，異なる程度の腎又は肝機能障害患者から得られた血漿の間で同程度であった。いずれの化合物も全血の血漿成分に選択的に分布した。グレカプレビル

及びピブレンタスビルの組織内分布は，ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（以下「QWBA」）及び乳汁 / 胎盤移行試験で評価された。

平衡透析法で測定したところ，グレカプレビルの血漿蛋白への結合率は高く，0.1 から 30 μmol/L の範囲で濃度依存性はなかった。マウス，ラット，イヌ，サル及びヒトにおける 1 μmol/L でのグレカプレビルの平均非結合型分率（以下「f_u」）は，0.026，0.0035，0.018，0.049 及び 0.025 であり，ラットがヒトと統計学的な差があった。グレカプレビルが赤血球に選択的に分配されることはなく，平均血液 / 血漿中濃度比は，種を通して 0.55–0.75 の範囲であった。Long Evans ラットに単回経口投与後，[^{14}C]グレカプレビルは主として肝臓に分布し，他のほとんどの組織にはわずかに分布した。[^{14}C]グレカプレビルはメラニン含有組織に選択的に結合せず，投与後 0.5 時間にわずかな量の薬物に由来する放射能が脳に認められた。妊娠ラットにおいて[^{14}C]グレカプレビルは，羊水，胎盤及び胎児組織に分布し，胎児肝及び血液に最大濃度が観測された（表 2.4-5；2.6.4.4.1 項）。

ピブレンタスビルの蛋白結合率は高く，検討したすべての種を通して f_u 値は 0.000045 から 0.000061 の範囲であり，濃度に依存しなかった。ピブレンタスビルは種を通して血漿分画に選択的に分布し，血液 / 血漿中濃度比は 0.57-0.66 であった。Long Evans ラットにおいて[^{14}C]ピブレンタスビル由来の放射能は緩慢に吸収され，組織に分布し，投与後 4–8 時間に最高濃度に到達し，特定の組織への残留は認められなかった。[^{14}C]ピブレンタスビルはメラニン含有組織に選択的に結合せず，脳内に分布しなかった。妊娠ラットに[^{14}C]ピブレンタスビルを経口投与したところ，ごくわずかな胎盤通過及びごくわずかな胎児組織への分布が観測された。胎児組織の中で肝臓及び血液にのみ放射能が検出され，投与後 12 時間まで測定可能な濃度が認められた（表 2.4-5；2.6.4.4.2 項）。

表 2.4-5.　　分布：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験

Test System	Compound	Study Report	Module 4
Plasma Protein Binding, Red Blood Cell Distribution	Glecaprevir	R&D/16/0374	4.2.2.3-1
[^{14}C]Glecaprevir Rat QWBA	Glecaprevir	R&D/14/0755	4.2.2.3-4
[^{14}C]Glecaprevir Placental and Lacteal Transfer in Rat	Glecaprevir	R&D/16/0244	4.2.2.3-5
Plasma Protein Binding, Red Blood Cell Distribution	Pibrentasvir	R&D/16/0372	4.2.2.3-7
[^{14}C]Pibrentasvir Rat QWBA	Pibrentasvir	R&D/14/0262	4.2.2.3-8
[^{14}C]Pibrentasvir Placental and Lacteal Transfer in Rat	Pibrentasvir	R&D/16/0244	4.2.2.3-5

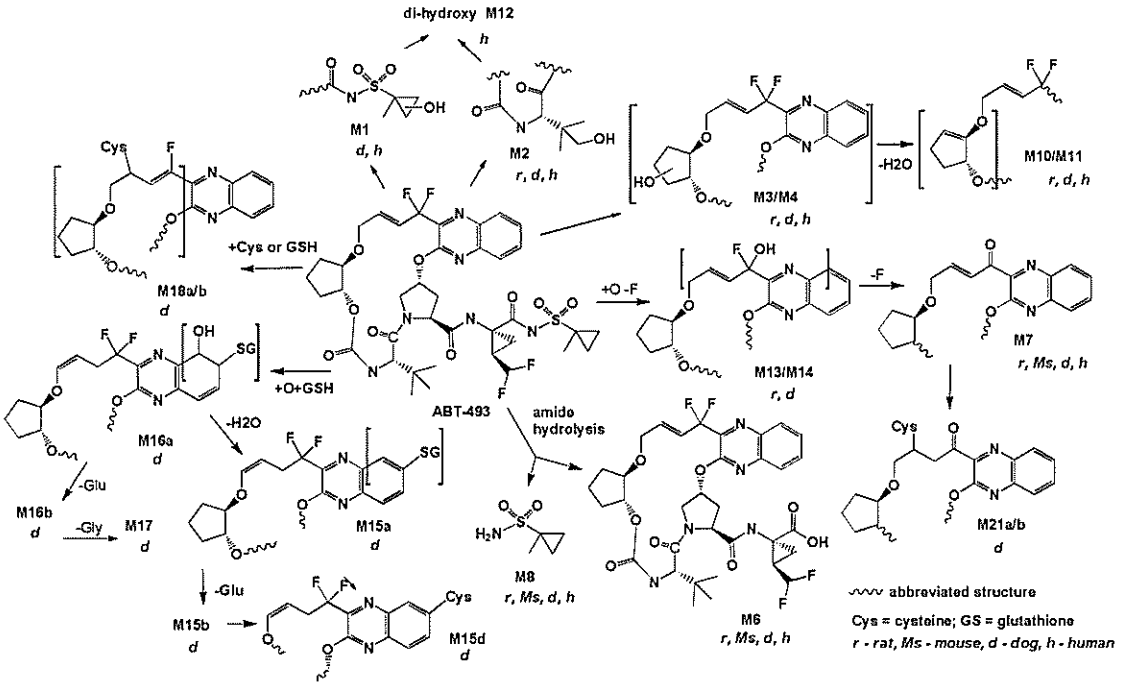
2.4.3.3　　代謝

代謝物の同定により，グレカプレビルの *in vitro* 代謝は，*tert*-ブチル基の酸化（M2），シクロペンチル基，ジフルオロブテニル基又はキノキサリン基の酸化（M4 及び M5 並びに未同定）に限定され，大環状構造中のジフルオロメチンのケトンへの変換（M7）も観察された。マウス，ラット及びヒトにおけるグレカプレビルの *in vivo* 生体内変換は，ミクロソーム及び肝細胞で認められたものと類似していたが，アシルメチルシクロプロパン-スルホンアミドにおけるアミドの加水分解（M6 及び M8）並びにシクロペンチル基の脱水素（M10 及び M11）も含まれた。*in*

vivo のイヌにおいてのみ，キノキサリン基又はジフルオロブテニル部分のグルタチオン抱合体及びシステイン抱合体も低濃度観測された。

健康成人被験者に[^{14}C]グレカプレビルを単回経口投与したところ，未変化の親薬物は血漿中の薬物関連物質の唯一の放射化学的成分であり，血漿中総放射能の 100%を占めた。HPLC-MS 分析により，4 種類の代謝物である M2，M4，M5 及び M13 がこん跡濃度検出されたが，放射化学的な方法では検出限界未満であった。ヒト糞中では，投与量の 22.6%が未変化の親薬物として回収された。M6 は主要放射化学的成分（投与量の 41.7%）であり，腸内で親薬物のアミド加水分解により生成した。酸化的代謝物及びそれらのスルホンアミド加水分解生成物は糞中にも観測された。それらは M2，M4，M5，M22，M23 及び M24 であり，各々投与量の 1.5%，0.3%，1.8%，8.3%，12.3%及び 2.0%を占めた。ヒト尿中には投与した[^{14}C]グレカプレビルの 1%未満しか回収されなかったため，ヒト尿の代謝物プロファイリングを実施しなかった。非臨床毒性評価動物種において類似した代謝及び排泄が見られた。ラットにおいて親薬物は血漿及び胆汁中の主成分であり，循環する代謝物はこん跡濃度認められるのみであった。M6 はラット糞中の主代謝物であり，グレカプレビルのアミド加水分解が主として腸で起こることが示された。授乳中ラットにおいて乳汁中に排泄された放射能の大部分は未変化の親薬物（乳汁中放射能の 96.5%）であり，授乳中の仔に影響はなかった（2.4.4.1 項；図 2.4-3，表 2.4-6；2.6.4.5.1 項）。

図 2.4-3. マウス，ラット，イヌ及びヒト血漿中に認められた代謝物に基づくグレカプレビル（ABT-493）の推定生体内変換経路



in vivo でのマウス，ラット，イヌ及びヒトにおける代謝物の同定により，ピブレンタスビルは種を通してごくわずかしか代謝されないことが示された。ヒト及びマウスにおいて *O*-脱メチル化による M4 の生成がわずかに観測された。前臨床動物種においてピロリジン環及び 4-フルオロフェニルピペリジンの酸化も観測された。ヒトに[^{14}C]ピブレンタスビルを単回経口投与したところ，未変化の[^{14}C]ピブレンタスビルが血漿中及び糞中の唯一の薬物に関連する放射化学的成分であった。ヒト血漿を HPLC-MS 分析したところ，M4（*O*-脱メチル体）が唯一の代謝物としてこん跡量（0.2%）観測された。非臨床動物種に経口投与したところ，親薬物が血漿中及び糞中の主成分であった。ラット胆汁試料において 2 種類の微量代謝物である M3 及び M4 が HPLC-MS によってのみ検出され，これらはピロリジン環の酸化及び *O*-脱メチル化生成物であった。授乳中ラットにおいて乳汁中に排泄された放射能の 100%が未変化の親薬物であり，授乳中の仔に影響はなかった（2.4.4.3 項；図 2.4-4；表 2.4-6；2.6.4.5.2 項）。

図 2.4-4.　マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるピブレンタスビル（A-1325912）の推定生体内変換経路

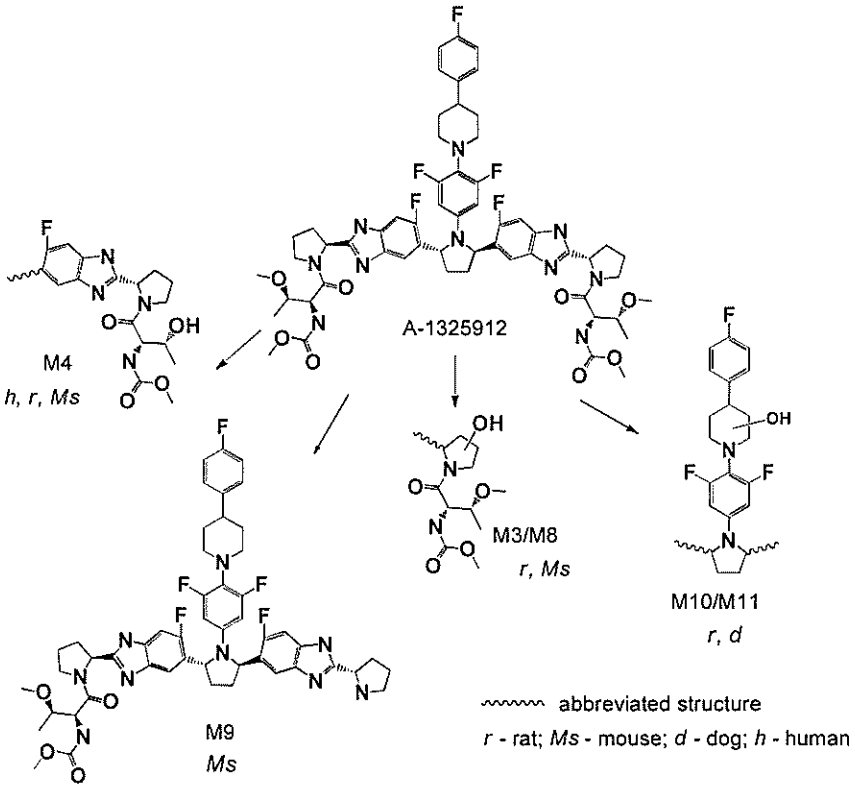


表 2.4-6. 代謝：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験

Test System	Compound	Study Report	Module 4
In Vitro Metabolism	Glecaprevir	1282576-memo-06;	4.2.2.4-21
		1282576-memo-10	4.2.2.4-1
		R&D/12/620	4.2.2.4-2
Metabolite ID: Mouse, Rat Plasma	Glecaprevir	1282576-memo-18;	4.2.2.4-3
		1282576-memo-17	4.2.2.4-7
Metabolite ID: Rat Milk, Plasma	Glecaprevir	R&D/16/0368	4.2.2.4-16
[^{14}C]Glecaprevir Rat ADME	Glecaprevir	R&D/12/621;	4.2.2.2-3
		1282576-memo-20	4.2.2.4-4
[^{14}C]Glecaprevir Dog Metabolism and Excretion	Glecaprevir	1282576-memo-24;	4.2.2.4-5
		1282576-memo-22	4.2.2.4-8
[^{14}C]Glecaprevir Human ADME	Glecaprevir	R&D/15/0354;	4.2.2.5-1
		R&D/15/0355	4.2.2.4-6
Metabolite ID: Human Plasma	Glecaprevir	1282576-memo-16	4.2.2.4-9
In Vitro Metabolism	Pibrentasvir	1325912-memo-06;	4.2.2.4-22
		1325912-memo-10	4.2.2.4-10
		R&D/12/629	4.2.2.4-11
[^{14}C]Pibrentasvir Mouse Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	R&D/16/0370	4.2.2.4-12
Metabolite ID: TgHras Mouse Plasma	Pibrentasvir	1325912-memo-15	4.2.2.4-13
[^{3}H]Pibrentasvir Rat ADME	Pibrentasvir	R&D/12/634	4.2.2.2-9
[^{14}C]Pibrentasvir Rat Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	1325912-memo-16	4.2.2.4-14
Metabolite ID: Rat Plasma	Pibrentasvir	1325912-memo-17	4.2.2.4-15
Metabolite ID: Rat Milk, Plasma	Pibrentasvir	R&D/16/0368	4.2.2.4-16
[^{14}C]Pibrentasvir Dog Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	1325912-memo-18	4.2.2.4-17
Metabolite ID: Dog Plasma	Pibrentasvir	1325912-memo-20	4.2.2.4-18
[^{14}C]Pibrentasvir Human ADME	Pibrentasvir	R&D/15/0354;	4.2.2.5-1
		R&D/15/0353	4.2.2.4-19
Metabolite ID: Human Plasma	Pibrentasvir	1325912-memo-19	4.2.2.4-20

2.4.3.4 排泄

非臨床動物種及びヒトにグレカプレビル又はピブレンタスビルを経口投与した後，両化合物及びそれらの個々の代謝物は，主として胆汁中排泄及び糞中排泄を介して消失し，腎排泄はごくわずかであった。

胆管カニュレーションを施したラットに[^{14}C]グレカプレビルを経口投与したところ，投与放射能量の 62.5%が胆汁中に，23.3%が糞中に，1.9%が尿中に回収された。イヌにおいて投与量の 76.4%が糞中に，5.3%が尿中に回収された。ヒトにおける放射能標識体のマスバランス試験で，グレカプレビルの投与量の 92.1%の放射能が糞中に，0.66%が尿中に回収され，平均放射能総回収率は 92.8%であった（採取期間 168 時間；表 2.4-7；2.6.4.6.1 項）。

CD-1 マウスに[^{14}C]ピブレンタスビルを経口投与したところ，投与量の 95.2%の放射能が糞中に回収され，尿中に放射能は検出されなかった。胆管カニュレーションを施した雄性 Sprague-Dawley ラットに[^{3}H]ピブレンタスビルを経口投与したところ，投与量の 91.5%の放射能が糞中に，2.8%が胆汁中に，0.4%が尿中に回収された。イヌに経口投与したところ，投与量の 85.0%が糞中に，0.1%が尿中に回収された。ピブレンタスビルのヒト放射能標識体 AME 試験において，投与量の 96.6%の放射能が糞中に回収され，尿中に放射能は検出されなかった（表 2.4-7；2.6.4.6.2 項）。

表 2.4-7. 排泄：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験

Test System	Compound	Study Report	Module 4
[^{14}C]Glecaprevir Rat ADME	Glecaprevir	R&D/12/621	4.2.2.2-3
[^{14}C]Glecaprevir Rat Metabolism and Excretion	Glecaprevir	1282576-memo-20	4.2.2.4-4
[^{14}C]Glecaprevir Dog Metabolism and Excretion	Glecaprevir	1282576-memo-24	4.2.2.4-5
[^{14}C]Glecaprevir Human ADME	Glecaprevir	R&D/15/0355	4.2.2.4-6
[^{14}C]Pibrentasvir Mouse Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	R&D/16/0370	4.2.2.4-12
[^{3}H]Pibrentasvir Rat ADME	Pibrentasvir	R&D/12/634	4.2.2.2-9
[^{14}C]Pibrentasvir Rat Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	1325912-memo-16	4.2.2.4-14
[^{14}C]Pibrentasvir Dog Metabolism and Excretion	Pibrentasvir	1325912-memo-18	4.2.2.4-17
[^{14}C]Pibrentasvir Human AME	Pibrentasvir	R&D/15/0353	4.2.2.4-19

2.4.3.5 薬物動態学的相互作用

非臨床試験でグレカプレビル及びピブレンタスビルの酵素及びトランスポーターに関する *in vitro* 相互作用を評価した（表 2.4-8）。特に断らない限り，各 DAA の寄与及び非臨床データの臨床との関連性は，グレカプレビル及びピブレンタスビルレジメンを用いた臨床 DDI 試験で観測された正味の結果との関係において議論される。

相互作用を受ける側として，グレカプレビルは CYP3A4/5 により代謝され，より少ない程度であるが CYP2D6，CYP2C9 及び CYP2C8 によっても代謝される。しかしながら，ヒトにおける ADME 試験において，[^{14}C]グレカプレビルは主として糞中に排泄され，投与量の 1%未満が尿中に回収された。糞中では，放射能の大部分が未変化の親薬物（22.6%）及びその加水分解生成物 M6（腸細菌叢により仲介，41.7%）として回収された。酸化的代謝物及びそれらの加水分解生成物は投与量の約 26%を占め，グレカプレビルの消失において代謝は副次的な役割を果たすことが示された。*in vitro* において，ピブレンタスビルは非常に遅い速度で代謝され，検討したいずれの CYP に対しても 95%を上回る親薬物が残存した。*in vivo* でヒト及び前臨床動物種においてピブレンタスビルは非常にわずかしか代謝されなかった。ヒトにおいて，ピブレンタスビルは血漿中の唯一の成分であり，実質的に投与量のすべてが未変化の親薬物として糞中に排泄された。グレカプレビルは P-gp，BCRP，OATP1B1 及び OATP1B3 の基質である。ピブレンタスビルは P-gp 及び / 又は BCRP の基質である。

CYP 酵素の阻害又は誘導はグレカプレビル又はピブレンタスビルの曝露量に大きな影響を及ぼさないことが予想される。CYP3A4/P-gp 阻害剤であるリトナビルをグレカプレビル又はピブレンタスビルと併用した臨床試験において，グレカプレビル及びピブレンタスビルの曝露量は増加したが，これはリトナビルが P-gp 及び / 又は BCRP を阻害するためである。併用レジメンに関して，OATP，P-gp，BCRP 及び CYP3A4 を阻害する薬剤（例えばリトナビルによりブーストされたアタザナビル及びシクロスポリン）又は OATP 及び P-gp を阻害する薬剤（リファンピシンの単回投与）と併用投与したとき，グレカプレビル又はピブレンタスビルの曝露量の増加は，主としてトランスポーターの相互作用によるものであった。

グレカプレビルは CYP3A4 の阻害剤である。グレカプレビルは OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害し，ピブレンタスビルは OATP1B1 を阻害する。グレカプレビル及びピブレンタスビルは併せて，プラバスタチン（OATP 基質），ロスバスタチン（OATP，BCRP 基質），アトルバスタチン（CYP3A4，OATP 基質）及びシンバスタチン酸（OATP 基質）との間で臨床的に観測された相互作用の原因となる。グレカプレビル及びピブレンタスビルは P-gp 及び BCRP を阻害する。このことはジゴキシン（P-gp 基質），ダビガトラン（P-gp 基質），ロスバスタチン（OATP，BCRP 基質）及びソホスブビル（P-gp，BCRP 基質）の臨床における曝露量の増加と整合性が認められた。グレカプレビル及びピブレンタスビルは UGT1A1 の阻害剤であり，ピブレンタスビルは UGT1A4 の阻害剤である。ラルテグラビル（UGT1A1 基質）との間に弱いが臨床に関連する相互作用が観測されたが，ラモトリギン（UGT1A4 基質）との間には臨床的に意義のある相互作用は観測されなかった。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの腎排泄はごくわずかであり，腎トランスポーターである OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 及び MATE2K との受ける側又は与える側としての臨床的な相互作用は予想されない。

表 2.4-8.　薬物動態学的薬物相互作用：グレカプレビル及びピブレンタスビルの薬物動態試験

Test System	Compound	Study Report	Module 4
Drug-Drug Interactions: Metabolism and Transporters including (a) CYP/UGT Inhibition in Human Liver Microsomes (b) CYP Induction in Human Hepatocytes (c) Transporter Profiling Inhibition/Substrate: OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, MATE2K, Pgp/MDR1, BCRP, BSEP	Glecaprevir Pibrentasvir	R&D/16/1472	4.2.2.6-2

2.4.3.1　用いた分析法の妥当性

マウス，ラット，ウサギ及びイヌ血漿中グレカプレビル及びピブレンタスビルを定量するため特異的で高感度の濃度測定法が開発されバリデートされた（表 2.4-9）。バリデーションは FDA ガイダンス及び社内標準操作手順書に従って実施された[2]。試料測定期間中 incurred samples reanalysis の方法により，動物種ごと / 濃度測定法ごとに少なくとも 1 回は分析の再現性があることが示された[3]。

グレカプレビルの定量法では，方法のバリデーションにおいて共通の塩析を利用した液液抽出法を用いて，少量かつ一定量の動物血漿を一定量の安定同位体標識内標準物質，有機溶媒及び緩衝溶液と混合した。血漿中ピブレンタスビルの定量法では，アセトニトリルを用いる蛋白沈澱を利用して，少量かつ一定量の動物血漿を一定量の安定同位体標識内標準物質及び有機溶媒と混合した。遠心分離後，上清の一定量を等容量の脱イオン水で希釈した。引き続きいずれの化合物も HPLC-MS/MS で定量した。

いずれの方法でも，分析対象物質の共に抽出されたマトリックス成分からのクロマトグラフィーによる分離は，逆相の分析カラムで可能となった。検出は multiple reaction monitoring

（MRM）モードで行われた。いずれの動物種においても定量法はバリデートされた濃度範囲で線形（相関係数 >0.99）であった（表 2.4-9）。

表 2.4-9. 生体試料中濃度測定のバリデーション方法

Compound	Species	Validation Range	Stability (days)	Study Report	Module 4
Glecaprevir	Mouse	39.2-39800 ng/mL	378 (-20°C)	R&D/14/0994	4.2.2.1-4
Glecaprevir	Rat	65.1-33900 ng/mL	194 (-20°C)	R&D/12/459	4.2.2.1-5
Glecaprevir	Rabbit	5.06-5060 ng/mL	262 (-20°C)	R&D/14/0812	4.2.2.1-6
Glecaprevir	Dog	18.6-9690 ng/mL	145 (-20°C)	R&D/12/311	4.2.2.1-7
Pibrentasvir	Mouse	36.7-20400 ng/mL	128 (-20°C)	R&D/12/713	4.2.2.1-11
Pibrentasvir	Rat	4.95-50400 ng/mL	81 (-20°C)	R&D/14/0819	4.2.2.1-12
Pibrentasvir	Rabbit	36.1-20100 ng/mL	76 (-20°C)	R&D/14/0827	4.2.2.1-13
Pibrentasvir	Dog	36.6-20300 ng/mL	106 (-20°C)	R&D/12/174	4.2.2.1-14

Frozen stability determined for at least the time interval specified in the table.

代謝物の同定及びプロファイリング

in vivo 試験で得られた試料（胆汁，尿，糞及び血漿）並びに *in vitro* 試験で得られた試料（肝ミクロソーム及び肝細胞をインキュベーションしたもの）に含まれる成分を HPLC で分離し，オンラインのラジオフロー検出器で検出し，MS/MS で同定した。放射能標識したグレカプレビル，ピブレンタスビル及びそれらの代謝物は，ラジオクロマトグラム及び HPLC-MS クロマトグラムにおける保持時間を照合すること，並びに *in vitro* 又は *in vivo* の試験から得られた代表的な試料における薬物関連成分の高分解能 MS^n のフラグメンテーション・パターンを合成標品と照合することによりキャラクタリゼーションされた。参照標準物質が得られない代謝物に関しては，高分解能 MS^n のデータに基づき最も可能性の高い構造を提示した。

2.4.3.2 用いた動物モデルの妥当性

マウス，ラット，ウサギ及びイヌにおいて，グレカプレビルの剤形及び投与量はグレカプレビルの曝露量が最大となるように最適化された。ラット，イヌ及びヒト血漿において未変化の親薬物は，薬物関連物質の 90%を超過した（表 2.4-10）。定常状態に達した血漿試料分析により，ヒト血漿中には主要循環代謝物は存在しないことが確認された（800 mg QD × 10 日間）。ヒト主代謝物は存在しなかったが，グレカプレビルのヒトにおける代謝プロファイルはラット及びイヌで十分にカバーされていた。

表 2.4-10. 経口投与後定常状態での血漿中グレカプレビル代謝物プロファイル

	Mouse (a)	Rat (b)	Dog (c)	Human (d)
Glecaprevir (parent drug)	major	major	major	major
M1 (monohydroxy)	-	-	minor	minor
M2 (monohydroxy)	-	minor	minor	minor
M3 (monohydroxy)	-	minor	minor	minor
M4 (monohydroxy)	-	minor	minor	minor
M6 (amide hydrolysis)	minor	minor	minor	minor
M7 (defluorination & oxidation)	minor	minor	minor	minor
M10 (dehydrogenation)	-	minor	minor	minor
M11 (dehydrogenation)	-	minor	minor	minor
M12 (dihydroxylation)	-	-	-	minor
M13 (defluorination & hydroxylation)	-	minor	minor	-
M14 (defluorination & hydroxylation)	-	minor	minor	-
M15a (GSH conjugate)	-	-	minor	-
M15b (GSH conjugate degradant)	-	-	minor	-
M15d (Cys conjugate)	-	-	minor	-
M16a (oxidation & GSH conjugate)	-	-	minor	-
M16b (oxidation & GSH conjugate degradant)	-	-	minor	-
M17 (hydroxylation & Cys conjugate)	-	-	minor	-
M18a (defluorination & Cys-conjugate)	-	-	minor	-
M18b (defluorination & Cys-conjugate)	-	-	minor	-
M21a (Cys-conjugate of M7)	-	-	minor	-
M21b (Cys-conjugate of M7)	-	-	minor	-

Designations of major and minor reflect the FDA MIST guidelines, where major is defined as >10% of total drug related materials in plasma and minor is defined as <10% of total drug related materials in plasma.
(a) 75 mg/kg BID x 7 days; (b) 60 mg/kg BID x 5 days; (c) 100 mg/kg BID x 273 days;
(d) Study M[redacted]-356: 800 mg QD x 10 days
M8 was not detected in the HPLC-MS analysis of plasma samples at steady state across species.

最も高い全身曝露量が得られることに基づいて，CD-1 マウス及びビーグル犬がピブレンタスビルの毒性試験に関する主要非臨床動物種として選ばれた。マウス，ラット，イヌ及びヒト血漿中において未変化の親薬物は，薬物関連物質の 90%を超過した（表 2.4-11）。定常状態に達した血漿試料分析により，ヒト血漿中には主要循環代謝物は存在しないことが確認された（600 mg QD × 10 日間）。ヒト主代謝物は存在しなかったが，ピブレンタスビルのヒトにおける代謝プロファイルはマウス及びイヌで十分にカバーされていた。

表 2.4-11. 経口投与後定常状態での血漿中ピブレンタスビル代謝物プロファイル

Plasma Metabolites	Mouse(a)	Rat (b)	Dog (c)	Human (d)
Pibrentasvir (parent drug)	major	major	major	major
A-1325912 isomer	minor	-		minor
M4 (*O*-demethylation)	minor	-	-	minor
M8 (mono-oxidation)	minor	-	-	-
M9 (amide hydrolysis)	minor	-		-
M10 (mono-oxidation)	-	-	minor	-
M11 (mono-oxidation)	-	-	minor	-

Designations of major and minor reflect the FDA MIST guidelines, where major is defined as >10% of total drug related materials in plasma and minor is defined as <10% of total drug related materials in plasma.
(a) 100 mg/kg/day x 8 days, (b) 30 mg/kg/day x 85 days; (c) 100 mg/kg/day x 280 days;
(d) Study M[redacted]-355, 600 mg QD x 10 days.

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 グレカプレビル

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験で得られた曝露量とグレカプレビルの 1 日投与量 300 mg/日を非肝硬変患者及び肝硬変患者に投与した際の曝露量（それぞれ AUC：11.6 又は 30.4 μg•hr/mL）と比較した安全域を表 2.4-14 に示す。

反復投与毒性試験は，SD ラット（最長 26 週間），野生型 TgHras マウス（最長 4 週間）及びビーグル犬（最長 39 週間）を用いて実施した。これらの試験では高用量を投与可能な最大用量を用いて実施したが，その際の無毒性量における曝露量は，それぞれ 735，737 及び 1440 μg•hr/mL であった（表 2.4-14）。

反復投与毒性試験の病理組織学的検査でみられた変化は，イヌの 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験でみられた胆嚢の軽微から軽度の浮腫のみであった（≥ 16 μg•hr/mL）。この変化は，より高い全身曝露量（1440 μg•hr/mL）が得られたイヌの 39 週間反復投与毒性試験ではみられなかった。最長 4 週間の反復投与毒性試験を実施したマウスでは胆嚢の変化はみられなかった（737 μg•hr/mL）。イヌにおいてみられた胆嚢の変化は，炎症反応がみられず，上皮構造の恒常性が保たれていることから毒性とは判断しなかった。臨床検査における変化はイヌでのみみられ，イヌの 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では，ALP，ALT 及び GGT の増加がみられた。肝酵素の増加は病理組織学的検査でみられた胆嚢の変化とは関連ないものと考えられた。個体別ベースラインとこれらの肝酵素の増加の比較を次に示す：

a. ALP：13 週間反復投与毒性試験のみでみられた。≥ 60 mg/kg/日（368 μg•hr/mL）で 2 倍から 5.5 倍の増加
b. ALT：13 週間反復投与毒性試験では，200 mg/kg/日（765 μg•hr/mL）で 2.2 倍から 3.8 倍の増加。39 週間反復投与毒性試験では，50 mg/kg/日（236 μg•hr/mL）で 2.1 倍から 4.0 倍の増加，200 mg/kg/日（1440 μg•hr/m）では 4.6 倍から 8.1 倍の増加
c. GGT：39 週間反復投与毒性試験のみでみられた。200 mg/kg/日（1440 μg•hr/m）で 2.5 倍から 4.6 倍の増加

グレカプレビルは *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性を示した。

グレカプレビルのラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，投与可能な最大用量において著変はみられなかった。ラットの胚・胎児発生に関する試験の無毒性量は投与可能な最大用量であり，その際の母動物の曝露量は 559 μg•hr/mL，母動物に対する胎児の曝露量比は 0.27：1 であった。

グレカプレビルのウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母体毒性が低用量からみられた。母体毒性（摂餌量及び体重の減少）が，用量設定試験の中間用量 100 mg/kg/日（2.2 μg•hr/mL）及び高用量 300 mg/kg/日（14.6 μg•hr/mL）でみられた。着床後胚損失及び吸収胚数の増加（300 mg/kg/日）並びに胎児体重の減少（100 及び 300 mg/kg/日）がみられたが，これらの変化は母体毒性に起因すると考えられた。胎児の変異，奇形は，胚・胎児発生に関する用量設定試験（最大 14.6 μg•hr/mL）ではみられなかった。ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験における母動物及び胎児の無毒性量は 30 mg/kg/日（0.4 μg•hr/mL）と考えられた。ウサギの胚・胎児発生に関する試験では，用いた高用量である 60 mg/kg/日（0.7 μg•hr/mL）で母体毒性及び胎児毒性はみられなかった。

生殖発生毒性試験における曝露量による安全域はヒトのポテンシャルリスクを考える上では重要と考えられる[4]。ラットにおいて実質上到達した曝露量は，薬効用量を上回っており（18 倍以上），ラットにおいて母動物毒性及び胎児毒性がみられなかった。したがって，生殖発生毒性に対するグレカプレビルへの影響は低いと考えらえた。

胚・胎児発生に関する試験を要約すると，ヒト臨床曝露量と比較して，それぞれ 18 倍及び 16 倍高い曝露量を得られたラットの胚・胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験でグレカプレビルに関連した変化がみられなかった。生殖発生毒性のリスクの予測は，特に，その動物種でヒト臨床曝露量と比較して大きな安全域がある場合は 1 種類の動物種で可能との報告がある。1 種の動物種（ラット）から広い安全域が得られていることから，グレカプレビルは，胚・胎児発生に関するリスクは低いと考えられる。このことは，ヒトの臨床予想曝露量を上回る曝露量が得られず，母体毒性がみられたが，ウサギでは胎児の奇形及び変異がみられなかったことからも支持される。

127 の低分子化合物のレトロスペクティブな調査では，生殖発生毒性物質を特定する際に 2 種の動物種の使用が 1 種類の使用よりも有用であることは示唆されず，さらに，ラット又はウサギのどちらか 1 種の動物種が他の動物種よりも感受性が高い一方，これらの違いは動物種差に起因するというよりも，実験条件によって左右されることが示唆された。すなわち，その調査は，生殖発生毒性の評価はラットよりもウサギを用いた方が有用であると示唆しなかった[5]。

別のレトロスペクティブな調査では，ウサギでは偽陽性となる可能性が低いヒト催奇形性物質の評価に対しては，ウサギよりげっ歯類を用いると予測性が高いことが報告されている[6]。ラットは生殖発生毒性の評価に適した動物種であり，ウサギと比較して，薬理学，毒性学及び薬物動態学的な豊富な知見が蓄積されていることから，より好ましい動物種と考えられる。げっ歯類におけるホルモンレベルの変動（下垂体前葉への効果，ドーパミンアゴニストのプロラクチンへの影響）が影響を及ぼす場合は，ウサギの重要性があるかもしれない[7]。先述したとおり，

ラットの最長 26 週間及びイヌの最長 39 週間反復投与毒性試験において，ヒト臨床予想曝露量を大きく上回る曝露量（それぞれ 24 倍及び 47 倍以上）でも生殖器官に影響はみられなかった。

最長 26 週までのラット及びの最長 39 週間までのイヌの反復投与毒性試験においてグレカプレビルに関連した血液学的検査値，免疫関連器官の器官重量及び病理組織学的検査及び血清グロブリンの変化並びに感染の増加等がみられなかったことから，グレカプレビルによる免疫抑制作用は示唆されなかった。

グレカプレビルの不純物は反復投与毒性試験で安全性を評価した。ICH M7 ガイドラインに従って，グレカプレビルの原薬製造工程に潜在する可能性のある変異原性不純物は許容限度値，がん原性不純物は許容 1 日曝露量以下で管理する。

グレカプレビルは 290–350 nm において光を吸収し，中性の水溶液中で UV－可視光領域で光安定性を示さず，皮膚や眼への分布は少なかった。グレカプレビルは，*in vitro* 光毒性試験（ニュートラルレッド取り込み光毒性試験）では光毒性が陽性であったが，有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験では陰性を示した。ICH S10 ガイドラインに従い，グレカプレビルの光毒性がヒトで発現するリスクは低いと考えられた。

グレカプレビルの毒性試験一覧表を表 2.4-12 に示す。無毒性量を下線で示す。

表 2.4-12. グレカプレビル毒性試験プログラム

Study Type and Duration	Route of Administration	Glecaprevir Doses (mg/kg/day)[a]	Species	Study Report/CTD
Repeat-dose toxicity				
4-week	Oral	0, 40, 125, 300	Wild-type TgHras Mouse	R&D/13/682 (4.2.3.2-GLE-3)
13-week	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/11/930 (4.2.3.2-GLE-5)
	Oral	0, 20, 60, 200	Dog	R&D/11/925 (4.2.3.2-GLE-8)
26-week	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/14/0001 (4.2.3.2-GLE-6)
39-week	Oral	0, 20, 50, 200	Dog	R&D/14/0002 (4.2.3.2-GLE-9)
Genotoxicity				
Bacterial mutagenesis	*in vitro*	up to 5000 µg/plate	Salmonella Escherichia	R&D/12/270 (4.2.3.3.1-GLE-1)
in vitro chromosome aberrations	*in vitro*	up to 256 µg/mL	Human lymphocytes	R&D/12/271 (4.2.3.3.1-GLE-2)
in vivo micronucleus	Oral	0, 500, 1000, 2000	Rat Polychromatic Erythrocytes	R&D/13/002 (4.2.3.3.2-GLE-1)
Reproduction and developmental toxicity				
Fertility	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/14/0683 (4.2.3.5.1-GLE-1)
Embryo-fetal DRF (GLP)	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/12/943 (4.2.3.5.2-GLE-1)
Embryo-fetal	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/13/913 (4.2.3.5.2-GLE-2)
Embryo-fetal DRF (GLP)	Oral	0, 50, 300	Rabbit	R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3)
Embryo-fetal DRF (GLP)	Oral	0, 30, 100, 300	Rabbit	R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)
Embryo-fetal	Oral	0, 20, 60	Rabbit	R&D/13/679 (4.2.3.5.2-GLE-5)
Peri-/post-natal development	Oral	0, 10, 40, 120	Rat	R&D/16/0239 (4.2.3.5.3-GLE-1)
Other Toxicity Studies				
Phototoxicity	*in vitro*	up to 0.1 mg/mL	Mouse fibroblasts	R&D/13/488 (4.2.3.7.7-GLE-1)
Phototoxicity	*in vivo*	0, 10, 40, 600	Long Evans Rat	R&D/13/803 (4.2.3.7.7-GLE-2)
Combination safety	Oral	0/0, 12.5/20[b]	Rat	R&D/16/0097 (4.2.3.7.7-GLE-4)

a. Where applicable, the highest no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is underlined.

b. Combination safety study with pibrentasvir; dosages refer to glecaprevir/pibrentasvir dose; while no adverse findings were noted in this study, it was not designed to define a maximal NOAEL.

2.4.4.2 ピブレンタスビル

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験で得られた曝露量とピブレンタスビルの 1 日投与量 120 mg/日を非肝硬変患者及び肝硬変患者に投与した際の曝露量（2.83 μg•hr/mL）と比較した安全域を表 2.4-15 に示す。

ピブレンタスビルの毒性試験は，ラットの最長 13 週間（30 mg/kg/日），マウスの最長 26 週間（100 mg/kg/日），イヌの最大 39 週間（100 mg/kg/日）の反復投与毒性試験において，投与可能な最大用量を用いて実施した。これらの投与量においては，病理組織学的所見を含め，毒性変化はみられなかった（ラットでは 8 μg•hr/mL，マウスでは 123 μg•hr/mL，イヌでは 25 μg•hr/mL）。肝硬変患者に 120 mg のピブレンタスビルを投与した際の全身曝露量（2.83 μg•hr/mL）と比較した値を表 2.4-15 に示す。なお，C_{max} は 0.18 μg/mL であった。毒性試験でみられた変化はイヌの 39 週間反復投与毒性試験の臨床検査においてみられ，100 mg/kg/日の Day 92 から Day 277 でみられた軽度から中等度の網状赤血球の減少（–25%から–62%）であった。ヒトの臨床推奨用量における曝露量の 9 倍の曝露量で発現したこれらの減少は，その程度が弱く，関連した赤血球系パラメータに変化がみられなかったことから，毒性とは考えなかった。なお，56 日間の休薬期間後，これらの変化は回復した。

ピブレンタスビルは *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性を示した。

マウスの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，投与可能な最大用量において，性周期，交配行動，受胎能，卵巣，子宮パラメータに，ピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。生殖発生に関する無毒性量は，投与可能な最大用量である 100 mg/kg/日であった（雄の C_{max} 及び AUC_{0-24h} はそれぞれ，6.95 μg/mL 及び 153.0 μg•hr/mL であった）。雌のトキシコキネティクス測定は実施しなかった。雌マウスの 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験におけるピブレンタスビルの AUC は 141 μg•hr/mL であった。

マウスの胚・胎児発生に関する用量設定試験では投与可能な最大用量である 100 mg/kg/日（AUC_{0-24h}：64.8 μg•hr/mL）で母動物及び胎児に著変はみられず，その後実施したマウスの胚・胎児発生に関する試験でも 100 mg/kg/日（AUC_{0-24h}：73.1 μg•hr/mL）において母動物及び胎児に著変はみられなかった。その際の母動物に対する胎児の曝露量比は 0.073 であった。

4 種の溶媒を用いてピブレンタスビルをウサギに単回投与した結果，2.56 μg•hr/mL 以上の全身曝露量を得ることができなかった。その後実施したウサギを用いたピブレンタスビルの皮下投与においても全身曝露は確認されなかった。ピブレンタスビルの 1 日 2 回投与を試みたが，全身曝露量の改善はみられなかった。そこで静脈内投与で全身曝露量が改善するかを検討したが，静脈内投与における忍容性が良好でなかったことから，Phosal 53MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 を溶媒として，ピブレンタスビルを妊娠ウサギに経口投与し，胚・胎児発生に関する試験を実施した。当該試験においては，対照群を含む全群の数例で母体毒性がみられたが，100 mg/kg/日まで胚・胎児に対して著変はみられなかった。その際の母動物の全身曝露量（AUC_{0-24h}）は 2.1 μg•hr/mL であり，母動物に対する胎児曝露量の比は 0.025 であった。

これらの，投与可能な最大用量を用いた試験において，げっ歯類及び非げっ歯類におけるピブレンタスビルの胚・胎児発生に関するリスクを評価した結果，ウサギにおけるピブレンタスビルの全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）はマウスよりも低かったが，非肝硬変患者及び肝硬変患者にピブレンタスビルを 120 mg/日で投与した際の全身曝露量（2.83 μg•hr/mL）と同様又はそれを上回る曝露量においても，胚・胎児発生に対して著変はみられなかった（表 2.4-15）。

ピブレンタスビルの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において，妊娠マウスにピブレンタスビルの 3，10 及び 100 mg/kg/日を 1 日 1 回妊娠期間から授乳期間に経口投与した結果，忍容性が良好であった。したがって，母動物の無毒性量は 100 mg/kg/日であった。出生児においても著変はみられなかったことから，出生児における無毒性量も 100 mg/kg/日であった。分娩後 14 日における 100 mg/kg/日の母動物の全身曝露量は 107 μg•hr/mL であった。

ピブレンタスビルに関する免疫毒性試験は実施しなかった。マウスの 26 週間反復投与毒性試験及びイヌの 39 週間反復投与毒性試験における血液学的検査，免疫系組織の器官重量及び病理組織学的検査等の結果から，ピブレンタスビルは免疫抑制作用を有しているとは考えられなかった。

ピブレンタスビルの不純物は反復投与毒性試験で安全性を評価した。ICH M7 ガイドラインに従って，ピブレンタスビルの原薬製造工程に潜在する可能性のある変異原性不純物は許容限度値，発がん性不純物は許容 1 日曝露量以下で管理する。

ピブレンタスビルは 290–320 nm で光を吸収し，UV－可視光領域で不安定であった。ピブレンタスビルの光毒性を評価するために，3T3 線維芽細胞（Balb/c 3T3，マウス線維芽細胞由来）を用いて *in vitro* ニュートラルレッド取り込み光毒性試験を実施した結果，光毒性が示されず，ICH S10 ガイドラインに従い，ヒトに対する光毒性の懸念は低いと考えられた。

以上，ピブレンタスビルは毒性ポテンシャルが低く，生殖発生毒性に対して著変を示さず，光毒性誘発能又は遺伝毒性誘発能を示さなかった。

グレカプレビル及びピブレンタスビルは HCV 感染患者に配合剤として投与される。ロシア当局の要求に従い，低用量ではあるがラットの 4 週間併用投与毒性試験を実施した。その際のグレカプレビル及びピブレンタスビルの全身曝露量はヒトと同様であった。

ピブレンタスビルの毒性試験一覧表を表 2.4-13 に示す。

表 2.4-13. ピブレンタスビル毒性試験プログラム

Study Type and Duration	Route of Administration	Glecaprevir Doses (mg/kg/day)[a]	Species	Study Report/CTD
Repeat-dose toxicity				
4 weeks	Oral	0, 3, 10, 100	TgHras Mouse	R&D/13/666 (4.2.3.2-PIB-3)
13 weeks	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/12/138 (4.2.3.2-PIB-4)
	Oral	0, 3, 10, 30	Rat	R&D/13/600 (4.2.3.2-PIB-7)
	Oral	0, 3, 10, 100	Dog	R&D/12/345 (4.2.3.2-PIB-9)
26 weeks	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/13/434 (4.2.3.2-PIB-5)
39 weeks	Oral	0, 3, 10, 100	Dog	R&D/13/172 (4.2.3.2-PIB-10)
Genotoxicity				
Bacterial mutagenesis	*in vitro*	up to 5000 µg/plate	Salmonella Escherichia	R&D/12/269 (4.2.3.3.1-PIB-1)
in vitro chromosome aberrations	*in vitro*	up to 250 µg/mL	Human lymphocytes	R&D/12/265 (4.2.3.3.1-PIB-2)
in vivo micronucleus	Oral	0, 500, 1000, 2000	CD-1 Mouse	R&D/13/014 (4.2.3.3.2-PIB-1)
Reproduction and developmental toxicity				
Fertility and Early Embryonic Development	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/14/0682 (4.2.3.5.1-PIB-1)
Embryo-Fetal Development	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/13/253 (4.2.3.5.2-PIB-1)
	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/13/950 (4.2.3.5.2-PIB-2)
	Oral	0, 10, 100	Rabbit	R&D/13/958 (4.2.3.5.2-PIB-3)
	Oral	0, 10, 100[c]	Rabbit	R&D/13/638 (4.2.3.5.2-PIB-4)
Perinatal and Postnatal Development	Oral	0, 3, 10, 100	CD-1 Mouse	R&D/15/0822 (4.2.3.5.3-PIB-1)
Other Toxicity Studies				
Impurities	Oral	0, 100[b]	CD-1 Mouse	R&D/16/0640 (4.2.3.7.6-PIB-1)
Phototoxicity	*in vitro*	up to 3 µg/mL	Mouse fibroblasts	R&D/13/656 (4.2.3.7.7-PIB-1)

a. Where applicable, the highest no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is underlined.

b. Study included a control group, a pibrentasvir group with low levels of impurities and a pibrentasvir group spiked with impurities.

c. The maternal NOAEL could not be established due to confounding effects of the vehicle formulation. The NOAEL for embryo-fetal development was 100 mg/kg/day, the highest dosage tested.

2.4.4.3 光毒性試験

グレカプレビルは 290–350 nm において光を吸収する（グレカプレビルの 3.2.S.3.1 項，図 15）。333 nm におけるモル吸光係数が 6.5×10^3 L $mol^{-1}cm^{-1}$ であった。（グレカプレビルの 3.2.S.3.1 項，表 4）。ピブレンタスビルは 290–320 nm で光を吸収する（ピブレンタスビルの 3.2.S.3.1 項，図 15）。ピブレンタスビルの 289 nm におけるモル吸光係数は 2.45×10^4 L $mol^{-1}1cm^{-1}$ であった（ピブレンタスビルの 3.2.S.3.1 項，表 4）。グレカプレビル及びピブレンタスビルのモル吸光係数は ICH S10 ガイドラインで記載される 1000 L $mol^{-1}1cm^{-1}$ を上回った。グレカプレビル及びピブレンタスビルは UV－可視光領域で不安定であった（グレカプレビルの 3.2.S.7.1 項，ピブレンタスビルの 3.2.S.7.1 項）。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの組織分布は，有色ラットを用いた全身オートラジオグラフィーを用いて評価した。[^{14}C]グレカプレビルの主な分布器官は肝臓であり，投与後 30 分から 8 時間における皮膚や眼への分布は少なく，メラニン組織への親和性はないと考えられた。[^{14}C]ピブレンタスビルは緩やかに体内に吸収され，全身組織への分布は乏しく，皮膚に対する分布は投与後 8 時間後のみで確認されたが，その濃度は血漿中と比較して低濃度であった。眼組織に対する分布は，投与後 2 時間にぶどう膜に[^{14}C]ピブレンタスビルが確認された。メラニン含有組織への特異的な分布はみられなかった。

これらの情報を基に，グレカプレビル及びピブレンタスビルの光毒性ポテンシャルを *in vitro* ニュートラルレッド取り込み光毒性試験で評価した。

ピブレンタスビルは *in vitro* 光毒性試験で陰性を示したが，グレカプレビルは陽性を示したため，*in vivo* 光毒性試験（有色ラット）を実施したところ，陰性であった。ICH S10 ガイドラインに従い，グレカプレビルの光毒性がヒトで発現するリスクは低いと考えられた。

2.4.4.4 非臨床試験データのヒトへの外挿性

投与可能な最大用量で実施した反復投与毒性試験において，グレカプレビル又はピブレンタスビルに起因した毒性変化はみられなかった（表 2.4-14 又は表 2.4-15）。グレカプレビルのイヌの毒性試験では，毒性変化ではない肝臓の変化が病理組織学的検査及び臨床検査においてみられた。すなわち，イヌの 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験では胆嚢の軽微から軽度の浮腫がみられた。しかし，これらの試験よりも高い曝露量が得られたイヌの 39 週間反復投与毒性試験では，この変化はみられなかった。イヌにおいてみられた胆嚢の変化は，炎症反応がみられず，上皮構造の恒常性が保たれていることから毒性とは判断しなかった。臨床検査における変化は，イヌの 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験で，ALP，ALT 及び GGT の増加がみられた。これらの変化は，変化の程度が比較的小さく（ベースラインと比較して 8 倍以下），病理組織学的検査に関連のある変化がみられなかったことから毒性とは判断しなかった。グレカプレビル及びピブレンタスビルに重複する毒性はみられなかった。

これまでにグレカプレビルの 300 mg 及びピブレンタスビルの 120 mg の投与を受けた日本人の HCV 感染患者においてみられた有害事象はほとんどが軽度のものであり，よくみられた有害

事象は，そう痒症（4.8%），頭痛（4.2%），倦怠感（3.0%）及び血中ビリルビン増加（2.4%）であった（表 2.7.4-29）。グレカプレビルの 700 mg 以上を反復投与した海外で実施した健康成人による第 I 相臨床試験では，無症候性の ALT 増加（グレード 3）が 2 例，総ビリルビンの増加（グレード 3）が 3 例でみられた。その他，無症候性の ALT の増加及び総ビリルビンの増加がまれにみられたが，一般的に忍容性が良好であった（2.7.4.5.6 項）。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 グレカプレビル及びピブレンタスビルの特徴

薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験では，臨床試験で使用した被験物質原薬を使用した。遺伝毒性不純物は，製造過程で含有量を削減するように適切な管理を施し，原薬及び製剤の規格値によって規制した。グレカプレビル及びピブレンタスビルの原薬及び製剤中の不純物の規格については第 3 部に示す（グレカプレビルの 3.2.S.2.6 項，グレカプレビルの 3.2.S.2.3 項，ピブレンタスビルの 3.2.S.2.6 項，ピブレンタスビルの 3.2.S.2.3 項，グレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.6 項）。

2.4.5.1.1 グレカプレビルの安全性

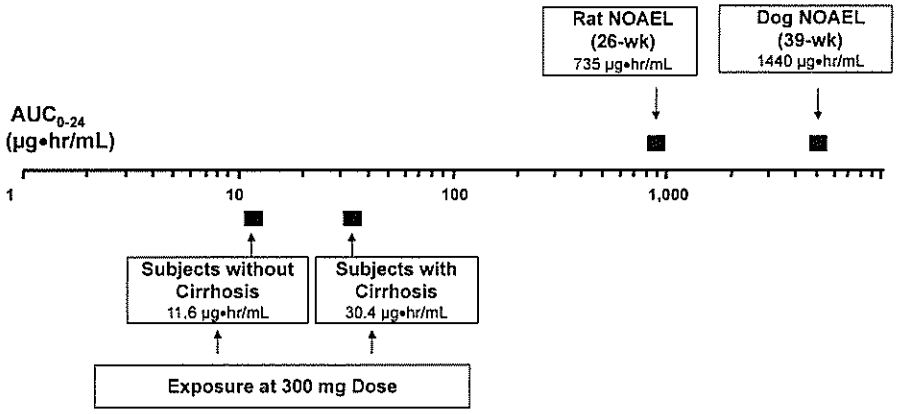
安全性薬理試験においてグレカプレビルに懸念すべき所見はみられなかった。

げっ歯類及び非げっ歯類を用いた毒性試験では薬理学的有効曝露量を上回る曝露量が確認された。反復投与毒性試験は，SD ラット（最長 26 週間），野生型 TgHras マウス（最長 4 週間）及びビーグル犬（最長 39 週間）を用いて実施した。これらの試験では高用量を投与可能な最大用量を用いて実施したが，その際の無毒性量における曝露量は，それぞれ 735，737 及び 1440 μg•hr/mL（表 2.4-14）であった。

反復投与毒性試験の病理組織学的検査でみられた変化は，イヌの 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験でみられた胆嚢の軽微から軽度の浮腫のみであった。この変化は，より高い全身曝露量が得られたイヌの 39 週間反復投与毒性試験ではみられなかった。イヌにおいてみられた胆嚢の変化は，炎症反応がみられず，上皮構造の恒常性が保たれていることから毒性とは判断しなかった。臨床検査における変化はイヌでのみみられ，イヌの 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では，ALP，ALT 及び GGT の増加がみられた。これらの肝酵素の増加は病理組織学的検査で関連した変化がみられず，その程度が弱いことから毒性ではないと考えられた。

無毒性量及び毒性量における曝露量を図 2.4-5 に示す。

図 2.4-5. グレカプレビルの無毒性量，毒性量，及び臨床投与量における曝露量



グレカプレビルは *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性を示した。グレカプレビルのラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び胚・胎児発生に関する試験では，投与可能な最大用量において著変はみられなかった。グレカプレビルのウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母体毒性及び胎児毒性（着床後胚損失及び吸収胚数の増加並びに胎児体重の減少）がみられたが，胎児の変異，奇形は，みられなかった。ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験でも投与可能な最大用量を用いたが，著変はみられなかった。

以上，グレカプレビルは毒性ポテンシャルが低く，生殖発生毒性に対して著変を示さず，光毒性誘発能又は遺伝毒性誘発能を示さなかった。

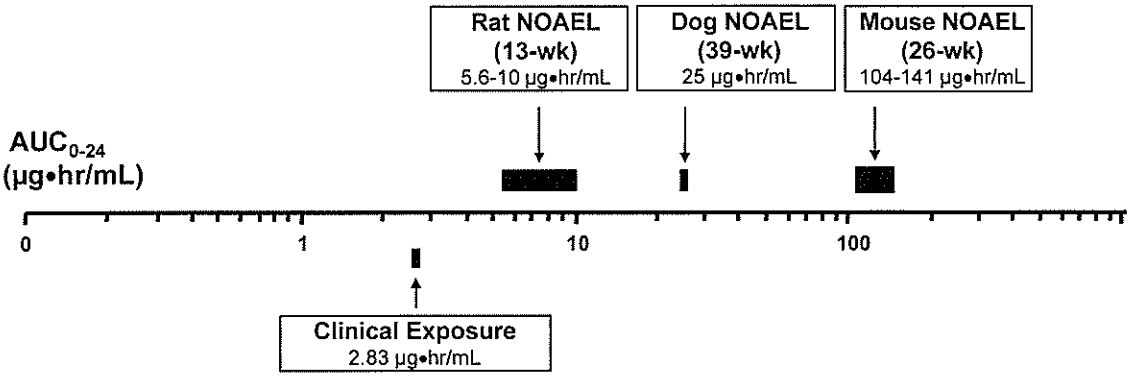
2.4.5.1.2 ピブレンタスビルの安全性

安全性薬理試験においてピブレンタスビルに懸念すべき所見はみられなかった。

ピブレンタスビルの毒性試験の高用量は，ラットの最長 13 週間（30 mg/kg/日），マウスの最長 26 週間（100 mg/kg/日），イヌの最大 39 週間（100 mg/kg/日）の反復投与毒性試験において，投与可能な最大用量を設定した。これらの投与量においては，病理組織学的所見を含め，毒性変化はみられなかった（ラットでは 8 µg•hr/mL，マウスでは 123 µg•hr/mL，イヌでは 25 µg•hr/mL）。なお，肝硬変患者に 120 mg のピブレンタスビルを投与した際の全身曝露量（2.83 µg•hr/mL）と比較した値を表 2.4-15 に示す。毒性試験でみられた変化はイヌの 39 週間反復投与毒性試験の臨床検査においてみられ，100 mg/kg/日の Day 92 から Day 277 でみられた軽度から中等度の網状赤血球の減少（–25%から–62%）であった。これらの減少は，ヒトの推定曝露量と比較して 9 倍高い曝露量でみられ，その程度が弱く，関連した赤血球系パラメータに変化がみられなかったことから，毒性とは考えなかった。なお，56 日間の休薬期間後，これらの変化は回復した。

無毒性量及び毒性量における曝露量を図 2.4-6 に示す。

図 2.4-6. ピブレンタスビルの無毒性量，毒性量，及び臨床投与量における曝露量



ピブレンタスビルは飽和曝露量においてマウス（73 µg•hr/mL）及びウサギ（2 µg•hr/mL）で催奇形性を示さなかった。その際の安全域はそれぞれ，26 倍及び 1 倍であった。また，ピブレンタスビルはマウスの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において，著変はみられなかった。その際の安全域はそれぞれ 52 倍及び 38 倍であった。ピブレンタスビルは *in vitro* 光毒性試験で陰性を示した。ピブレンタスビルは *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性を示した。

以上，ピブレンタスビルは毒性ポテンシャルが低く，生殖発生毒性に対して著変を示さず，光毒性誘発能又は遺伝毒性誘発能を示さなかった。

2.4.5.2 まとめ

グレカプレビル及びピブレンタスビルについて，一連の安全性薬理試験項目に及ぼす影響を検討した。グレカプレビルは，中枢神経系及び心血管系に影響を及ぼさなかったが，評価した最高用量である 60 mg/kg で呼吸数及び 1 回換気量にわずかな変化がみられた。1 分間換気量には変化がみられなかった。ピブレンタスビルは，中枢神経系，心血管系に及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。

薬物代謝酵素及びトランスポーターを介する薬物間相互作用（DDI）を受ける側及び与える側としてのグレカプレビル及びピブレンタスビルのポテンシャルは，非臨床試験において，更にグレカプレビル及びピブレンタスビルレジメンの一部として臨床的に評価された。CYP 酵素の阻害又は誘導は，相互作用を受ける側としてのグレカプレビル又はピブレンタスビルの曝露量に大きな影響を及ぼさないことが予測される。相互作用を与える側として，グレカプレビルは腸の CYP3A4 を阻害するポテンシャルがある。グレカプレビル及びピブレンタスビルの両方に関して，トランスポーターを介する DDI を受ける側及び与える側としてのポテンシャルがある。グレカプレビルは OATP1B1，OATP1B3，P-gp 及び BCRP の基質であり阻害剤である。ピブレ

ンタスビルは P-gp 及び / 又は BCRP の基質であり，OATP1B1，P-gp 及び BCRP の阻害剤である。

グレカプレビルはマウス，ラット及びイヌの反復投与毒性試験で忍容性が良好であり，SD ラット（最長 26 週間），野生型 TgHras マウス（最長 4 週間）及びビーグル犬（最長 39 週間）を用いて実施したが，グレカプレビルに起因した毒性変化はみられなかった。これらの試験では高用量を投与可能な最大用量を用いて実施したが，その際の無毒性量における曝露量は，それぞれ 735，737 及び 1440 μg•hr/mL であった（表 2.4-14）であった。

反復投与毒性試験においてみられたグレカプレビルに関連した変化は，イヌのみでみられた胆嚢の軽微から軽度の浮腫及び肝酵素（ALP，ALT 及び GGT）の増加であった。胆嚢の変化は，炎症反応がみられず，上皮構造の恒常性が保たれていることから毒性とは判断しなかった。胆嚢の変化は，イヌの 2 週間及び 13 週間反復投与毒性試験でみられたが，より高い全身曝露量が得られたイヌの 39 週間反復投与毒性試験ではみられなかった。肝酵素の増加は病理組織学的検査で関連した変化がみられず，その程度が弱いことから毒性ではないと考えられた。

ピブレンタスビルはマウス，ラット及びイヌの反復投与毒性試験で忍容性が良好であり，ラットの最長 13 週間，マウスの最長 26 週間，イヌの最大 39 週間の反復投与毒性試験を用いて実施したが，ピブレンタスビルに起因した毒性変化はみられなかった。ピブレンタスビルの毒性試験でみられた変化はイヌの 39 週間反復投与毒性試験の 100 mg/kg/日で Day 92 から Day 277 でみられた軽度から中等度の網状赤血球の減少（–25%から–62%）であった。これらの減少は，ヒトの推定曝露量と比較して 9 倍高い曝露量でみられ，その程度が弱く，関連した赤血球系パラメータに変化がみられなかったことから，毒性とは考えなかった。なお，56 日間の休薬期間後，これらの変化は回復した。CD-1 マウス，ラット及びイヌの最高曝露量は雌雄平均値でそれぞれ 123，8，7.8 及び 25 μg•hr/mL であり，ヒトの予想臨床曝露量（2.83 μg•hr/mL）と比較して 3 倍から 43 倍であった（表 2.4-15）。

グレカプレビル及びピブレンタスビルのヒトの生殖発生への懸念は，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，胚・胎児発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の結果から，低いと考えられた。ヒトの予想臨床曝露量と比較して高い曝露量が得られたげっ歯類（グレカプレビルではラット；ピブレンタスビルではマウス）の試験でも著変はみられなかった。グレカプレビルのウサギ試験では母体毒性のためヒトの予想臨床曝露量が得られなかったが，胎児の変異及び奇形はみられなかった。ピブレンタスビルのウサギ試験では，投与可能な最大用量（ヒトの臨床予想曝露量）において胚・胎児発生に著変はみられなかった。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの反復投与毒性試験において，被験物質に関連した血液学的検査値，免疫関連器官の器官重量及び病理組織学的検査及び血清グロブリンの変化並びに感染の増加等がみられなかったことから，グレカプレビル及びピブレンタスビルによる免疫抑制作用は示唆されなかった。

グレカプレビル及びピブレンタスビルの不純物は毒性試験及び不純物を添加して実施した毒性試験の結果から，規格設定された不純物及び分解物については，安全性上の問題はないと考えられた。

ピブレンタスビルは *in vitro* 光毒性試験で陰性を示した。グレカプレビルは，*in vitro* 光毒性試験（ニュートラルレッド取り込み光毒性試験）では光毒性が陽性であったが，有色 LE ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験では陰性を示した。グレカプレビル及びピブレンタスビルの配合剤をラットの 4 週間併用投与毒性試験を実施した結果，著変はみられなかった。その際のグレカプレビル及びピブレンタスビルの全身曝露量はヒトと同様であった。

以上のとおり，薬理試験，安全性薬理試験，薬物動態学試験及び毒性試験の結果は，HCV 感染患者にグレカプレビルの 300 mg 及びピブレンタスビルの 120 mg を併用投与した場合の有効性及び安全性を支持するものであった。

表 2.4-14. グレカプレビル：主要な毒性試験の概要

Study Type	Species	Duration	Study Report CTD Number	NOAEL (mg/kg/day)	NOAEL Exposure‡ (µg•hr/mL)	Safety Margin[a]	Adverse Findings Dose Exposure (µg•hr/mL)
General Toxicology	Mouse (wild-type TgHras)	4-week	R&D/13/682 (4.2.3.2-GLE-3)	300	737	64/24	NA
	Rat (Sprague-Dawley)	13-week	R&D/11/930 (4.2.3.2-GLE-5)	120	580	50/19	NA
		26-week	R&D/14/0001 (4.2.3.2-GLE-6)	120	735	63/24	NA
	Dog (Beagle)	13-week	R&D/11/925 (4.2.3.2-GLE-8)	200	765	60/25	NA
		39-week	R&D/14/0002 (4.2.3.2-GLE-9)	200	1440	124/47	NA
Reproductive Toxicology	Rat Fertility	M: 14 days prior to cohabitation to study termination F: 14 days prior to cohabitation to GD 7	R&D/14/0683 (4.2.3.5.1-GLE-1)	120	657	124/47	NA
	Rat Embryofetal	GD 6-18	R&D/13/913 (4.2.3.5.2-GLE-2)	120	559	48/18	NA
	Rabbit Embryofetal (Range-finding)	GD 7-19	R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)	30	0.4	0.03/0.01	≥ 100 mg/kg/day ≥ 2.2 µg•hr/mL Maternal toxicity, postimplantation loss, ↓ fetal body weight[b]
	Rabbit Embryofetal	GD 7-19	R&D/13/679 (4.2.3.5.2-GLE-5)	60	0.7	0.06/0.02	NA
	Rat Peri/post-natal Development	GD 6 to LD 20 or GD 24	R&D/16/0239 (4.2.3.5.3-GLE-1)	120	492	42/16	NA

NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; NA = not applicable; ‡ AUC at steady state over a 24 hr dosing interval

a. Assumes 11.6 or 30.4 µg•hr/mL as clinical efficacious exposure for patients without and with cirrhosis, respectively (2.7.2 項)

b. No fetal external or visceral fetal abnormalities in any of the dose groups (up to 14.6 µg•hr/mL maternal exposure) but there were resorptions, post implantation loss and decreases in fetal body weights (≥2.2 µg•hr/mL maternal exposure)

表 2.4-15. ピブレンタスビル：主要な毒性試験の概要

Study Type	Species	Duration	Study Report	NOAEL (mg/kg/day[a])	NOAEL Exposure‡ (µg•hr/mL)	Safety Margin[b]	Adverse Findings Dose Exposure (µg•hr/mL)
General Toxicology	Mouse (TgHras)	4-week	R&D/13/666 (4.2.3.2-PIB-3)	100	110	39	NA
	Mouse (CD-1)	13-weeks	R&D/12/138 (4.2.3.2-PIB-4)	100	127	45	NA
		26-weeks	R&D/13/434 (4.2.3.2-PIB-5)	100	123	43	NA
	Rat (Sprague-Dawley)	13-weeks	R&D/13/600 (4.2.3.2-PIB-7)	30	M: 10; F: 5.6	M: 4; F: 2	NA
	Dog (Beagle)	13 weeks	R&D/12/345 (4.2.3.2-PIB-9)	100	32	11	NA
		39 weeks	R&D/13/172 (4.2.3.2-PIB-10)	100	25	9	NA
Reproductive Toxicology	Mouse Fertility	M: 14 days prior to mating through euthanasia F: 14 days prior to mating through GD 6	R&D/14/0682 (4.2.3.5.1-PIB-1)	100	153 (M), 141 (F)	54 (M), 50 (F)[c]	NA
	Mouse Embryofetal	GD 6–15	R&D/13/950 (4.2.3.5.2-PIB-2)	100	73	26	NA
	Rabbit Embryofetal	GD 7–19	R&D/13/638 (4.2.3.5.2-PIB-4)	100	2	1	NA
	Mouse Peri/post-natal Development	GD 6-LD 20	R&D/15/0822 (4.2.3.5.3-PIB-1)	100	107	38	NA

NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; NA = Not applicable; M= male, F = female; ‡ AUC at steady state over a 24 hr dosing interval

a. Maximum feasible exposures

b. Safety margins for pibrentasvir in patients with or without compensated cirrhosis are based on a mean exposure of 2.83 µg•hr/mL with pibrentasvir 120 mg QD when administered with glecaprevir 300 mg QD (2.7.2 項)

c. Toxicokinetics not conducted for females in this study. Exposures were derived from the 26-week mouse study conducted at the same doses.

2.4.6 参考文献一覧

1. Draft Guidance for Industry: Chronic Hepatitis C Virus Infection: Developing Direct-Acting Antiviral Drugs for Treatment. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), October 2013.(4.3.1-1)
2. FDA. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2001. (4.3.1-2)
3. Viswanathan CT, Bansal S, Booth B, et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. Pharm Res 2007;24:1962-73. (4.3.1-3)
4. Daston GP, Chapin RE, Scialli AR, et al. A different Approach to Validating Screening Assays for Developmental Toxicity. Birth Defects Research (Part B). 2010;89:526-530. (4.3.1-4)
5. Janer G, Slob W, Hakkert BC, et al. A retrospective analysis of developmental toxicity studies in rat and rabbit: What is the added value of the rabbit as an additional test species? Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2008;50:206 217. (4.3.1-5)
6. Schardein JL, Schwetz BA, Kenel MF. Species sensitivities and prediction of teratogenic potential. Environmental Health Perspectives. 1985;61:55-67. (4.3.1-6)
7. Van der Laan JW, Chapin RE, Haenen B, et al. Testing strategies for embryo-fetal toxicity of human pharmaceuticals. Animal models vs. in vitro approaches A workshop report. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2012;63:115-123. (4.3.1-7)