

2.6.1.2 効能・効果

C型慢性肝炎又はC型代償性肝硬変におけるウイルス血症の改善

2.6.1.3 用法・用量

- セログループ 1 (ジェノタイプ 1) 又はセログループ 2 (ジェノタイプ 2) の C 型慢性肝炎の場合

通常、成人には 1 回 3 錠 (グレカプレビルとして 300 mg, ピブレンタスビルとして 120 mg) を 1 日 1 回, 食後に経口投与する。投与期間は 8 週間とする。なお, C 型慢性肝炎に対する前治療歴に応じて投与期間は 12 間とすることができる。

- セログループ 1 (ジェノタイプ 1) 又はセログループ 2 (ジェノタイプ 2) の C 型代償性肝硬変の場合
- セログループ 1 (ジェノタイプ 1) 又はセログループ 2 (ジェノタイプ 2) のいずれにも該当しない C 型慢性肝炎又は C 型代償性肝硬変の場合

通常、成人には 1 回 3 錠 (グレカプレビルとして 300 mg 及びピブレンタスビルとして 120 mg) を 1 日 1 回, 食後に経口投与する。投与期間は 12 週間とする。

2.6.2 薬理試験の概要文

目次

2.6.2	薬理試験の概要文.....	1
2.6.2.1	まとめ.....	3
2.6.2.2	効力を裏付ける試験.....	3
2.6.2.2.1	グレカプレビルの効力を裏付ける試験.....	3
2.6.2.2.2	ピブレンタスビルの効力を裏付ける試験.....	12
2.6.2.2.3	HCV レプリコン細胞を用いたグレカプレビル及びピブレンタスビルの併用効果の検討.....	21
2.6.2.2.4	交差耐性の検討.....	23
2.6.2.3	副次的薬理試験.....	28
2.6.2.3.1	グレカプレビルの受容体結合性.....	28
2.6.2.3.2	ピブレンタスビルの受容体結合性.....	29
2.6.2.4	安全性薬理試験.....	29
2.6.2.4.1	グレカプレビルの安全性薬理試験.....	29
2.6.2.4.2	ピブレンタスビルの安全性薬理試験.....	30
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用試験.....	31
2.6.2.5.1	グレカプレビルの抗レトロウイルス薬の抗 HIV-1 活性及び抗レトロウイルス薬のグレカプレビルの抗 HCV 活性に及ぼす影響.....	31
2.6.2.6	考察及び結論.....	32
2.6.2.7	図表.....	33
2.6.2.8	参考文献.....	33

略語一覧

略語	省略していない表現又は説明（英語）	省略していない表現又は説明（英語）
EC ₅₀	concentration required for 50% efficacy	50%有効濃度
FOB	Functional Observation Battery	機能観察総合評価
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
hERG	ヒト ether a-go-go related gene	ヒト ether a-go-go 関連遺伝子
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
HBV	hepatitis B virus	B型肝炎ウイルス
HCV	hepatitis C virus	C型肝炎ウイルス
HIV-1	human immunodeficiency virus type-1	ヒト免疫不全症ウイルス1型
IC ₅₀	concentration required for 50% inhibition	50%阻害濃度
NS	non structural	非構造
QTc	corrected QT	補正 QT

2.6.2.1 まとめ

グレカプレビル (ABT-493, A-1282576) 及びピブレンタスビル (ABT-530, A-1325912) は C 型肝炎ウイルス (以下「HCV」) の治療薬として開発中の直接作用型抗ウイルス薬である。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。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 プロテアーゼ活性を阻害し、50%阻害濃度 (以下「IC₅₀」) 値は、それぞれ、4.6, 8.9, 3.5, 3.8, 7.9, 6.1, 8.1, 11.3 nM であった。また、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, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a 及び 6a に対する 50%有効濃度 (以下「EC₅₀」) は、それぞれ、0.85, 0.94, 2.2, 4.6, 1.9, 2.8, 0.86 nM であった。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, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a, 5a 及び 6a に対する EC₅₀ 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。

副次的薬理試験として、典型的な G たん白質共役受容体、イオンチャ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。グレカプレビル 10 µM を適用したとき、55%の置換がクロライドチャネルでみられ、IC₅₀ は、11 µM であった。

安全性薬理試験として、グレカプレビル及びピブレンタスビルの中樞神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を GLP 下で評価した。ピブレンタスビルは中樞神経系及び心血管系に影響を及ぼさなかった。また、グレカプレビルは、60 mg/kg の用量でわずかに呼吸数を増加させ、1 回換気量を減少させたが、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、中樞神経系、心血管系及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 グレカプレビルの効力を裏付ける試験

グレカプレビルの *in vitro* ヒトプロテアーゼ及び HCV プロテアーゼ阻害活性

(R&D/16/0964 [4.2.1.1-1 項], R&D/12/716 [4.2.1.1-2 項], 概要表 2.6.3.2.1)

グレカプレビルは、HCV NS3/4A 遺伝子でコードされるプロテアーゼの強力な阻害剤である。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 の各精製 NS3/4A プロテアーゼの活性を阻害し、IC₅₀ は、3.5 - 11.3 nM であった。また、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 (表 2.6.2-1)。

表 2.6.2-1. グレカプレビルの *in vitro* ヒトプロテアーゼ及び HCV プロテアーゼ阻害活性

Strain/Isolate	N	Mean IC ₅₀ or EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.
Activity against human proteases in biochemical assay		
Chymase	2	> 200,000
Elastase	2	> 200,000
Cathepsin B	2	> 200,000
Chymotrypsin Type II	2	> 200,000
Chymotrypsin Type VII	2	> 200,000
Kallikrein	2	> 200,000
Urokinase	2	> 200,000
Activity against HCV proteases in biochemical assay		
GT1a	6	4.6 ± 0.76
GT1b	6	8.9 ± 1.6
GT2a	6	3.5 ± 0.22
GT2b	6	3.8 ± 0.96
GT3a	6	7.9 ± 0.29
GT4a	6	6.1 ± 1.9
GT5a	6	8.1 ± 0.93
GT6a	6	11.3 ± 1.8

GT = genotype; NS3 = non-structural protein 3A

グレカプレビルの *in vitro* 抗ウイルス活性

(R&D/12/716 [4.2.1.1-2 項], R&D/16/0568 [4.2.1.1-3 項], R&D/16/0964 [4.2.1.1-1 項],
 概要表 2.6.3.2.1)

グレカプレビルは、HCV ジェノタイプ 1a-H77, 1b-Con1 及び 2a-JFH1 サブゲノム安定レプリコン及び HCV ジェノタイプ 2b, 3a, 4a 又は 6a の HCV NS3 を含むキメラレプリコンの複製を阻害し、非血清存在下における EC₅₀ は 0.85 - 4.6 nM であった。40%ヒト血漿存在下では、GT1a 又は GT1b レプリコン細胞におけるグレカプレビルの阻害活性は、1/6-1/11 に低下し、HCV ジェノタイプ 1a-H77 及び 1b-Con1 レプリコン細胞に対する EC₅₀ は、それぞれ、5.3 nM 及び 10 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、EC₅₀ の中央値は 0.30 nM (0.05-3.8 nM) であった。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 (表 2.6.2-2)。

表 2.6.2-2. グレカプレビルの *in vitro* 抗 HCV 活性

Strain/Isolate	N	EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.	EC ₅₀ Range, nM	Comments
Activity against HCV subgenomic replicon-containing stable cell lines				
GT1a-H77	9	0.85 ± 0.15	-	-
GT1b-Con1	8	0.94 ± 0.35	-	-
GT2a JFH-1	7	2.2 ± 1.1	-	-
GT2b	8	4.6 ± 1.2	-	NS3 chimeric replicon
GT3a	4	1.9 ± 0.62	-	NS3 chimeric replicon
GT4a	4	2.8 ± 0.41	-	NS3 chimeric replicon
GT6a	4	0.86 ± 0.11	-	NS3 chimeric replicon
Activity against HCV subgenomic replicons containing NS3 from a panel of HCV clinical samples ^a				
GT1a	11	0.08	0.05 – 0.12	Q80K (n=5), Q80N (n=1)
GT1b	9	0.29	0.20 – 0.68	-
GT2a	4	1.6	0.66 – 1.9	-
GT2b	4	2.2	1.4 – 3.2	-
GT3a	2	2.3	0.71 – 3.8	-
GT4a	6	0.41	0.31 – 0.55	T54S (n=1)
GT4d	3	0.17	0.13 – 0.25	-
GT5a	1	0.12	-	-

GT = genotype; NS3 = non-structural protein 3A

a. Median EC₅₀ is provided for clinical samples (N = number of clinical samples). Number of samples in the panel with polymorphisms at amino acid positions 36, 43, 54, 55, 56, 80, 122, 155, 156, or 168 relative to the respective subtype specific reference sequence are listed in the 'comments' column.

グレカプレビルの HCV レプリコン細胞を用いた薬剤耐性変異の検討

(R&D/12/716 [4.2.1.1-2 項], R&D/16/0568 [4.2.1.1-3 項], R&D/16/0961 [4.2.1.1-4 項],
 概要表 2.6.3.2.1)

グレカプレビル存在下で HCV サブジェノミックレプリコン細胞を継代し、HCV ジェノタイプ 1-4 及び 6 レプリコンにより検出された特異的変異をそれぞれ対応した HCV サブジェノミックレプリコン細胞に組み込み、グレカプレビルの抗ウイルス活性 (EC₅₀ 及び EC₉₀) を検討した (表 2.6.2-3)。また、臨床試験で検出された変異及び他の NS3/4A プロテアーゼ阻害剤で報告されている変異についても同様に検討した。グレカプレビルの抗ウイルス活性について評価した変異のまとめを表 2.6.2-4 に示した。また、グレカプレビル存在下で継代したときに検出された変異を下線で示した (表 2.6.2-4)。

HCV ジェノタイプ 1a-H77, 1b-Con1, 2a-JFH-1, 及び 2b, 3a, 4a 及び 6a レプリコン細胞を各ジェノタイプに対する EC₅₀ の 10 倍, 100 倍及び 500 倍量のグレカプレビル存在下で継代培養し、グレカプレビルに対する *in vitro* 耐性発現を検討した (表 2.6.2-3)。HCV ジェノタイプ 1a-H77,

1b-Con1, 2a JFH-1, 2b 及び 4a レプリコン細胞の *in vitro* 継代試験において検出されたグレカプレビルに対する主要な変異は、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、グレカプレビル存在下で検出された生存コロニーは、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、グレカプレビル存在下で検出された変異は D168H 又は D168V であった。

表 2.6.2-3. グレカプレビルの HCV レプリコン細胞を用いた NS3 薬剤耐性変異の検討

HCV Replicon Genotype	Fold over EC ₅₀		
	10X	100X	500X
	Amino Acid Substitutions in NS3 Detected Relative to Wild-type sequence (Prevalence ^a)		
1a-H77	Q41R (13/28) I170V (10/28)	A156T (8/17) A156V (3/17) Q89R+A156T (4/17)	NV
1b-Con1	A156T (3/25) A156V (7/25) P89L+A156V (6/25)	A156V (5/25) P89L+A156V (5/25) A156V+D168V (5/25)	A156V (5/24) P89L+A156V (6/24) A156V+D168V (8/24)
2a JFH-1	A156T (13/24) A156V (9/24) G15D + A156T (2/24)	A156T (5/23) A156V (16/23) G15D + A156V (2/23)	ND
2b	A156T (21/23) A156V (2/23)	A156T (16/20) A156V (4/20)	A156M (1/21) A156V (20/21)
3a	P89L (2/10) P89S (2/10)	Y56H+Q168R (2/3) A156G (1/3)	NV
4a	A156T (23/26) A156V (9/36)	A156T (6/9) A156V (1/9)	A156T (5/14) A156V (4/14)
6a	D168H (13/25) D168V (7/25)	NV	NV

NV = not viable, colonies did not survive selection, ND = not determined

a. Number of times this substitution was found out of the total number of colonies analyzed.

HCV ジェノタイプ 1a-H77, 1b-Con1, 2a-JFH1, 2b, 3a 及び 4a レプリコンにおいて、NS3 領域の 156 位の変異によりグレカプレビルに対する耐性 (148-3106 倍) がみられたが、NS3 領域の 36, 43, 54, 55, 56 及び 155 位の変異は影響を及ぼさなかった。ジェノタイプ 1a 及び 1b において、グレカプレビルは、80 位の変異により活性は変化しなかったが、ジェノタイプ 3a において、Q80R 変異により活性は 21 分の 1 に低下した。HCV ジェノタイプ 2a-JFH-1, 2b 及び 4d 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活性は変化しなかったが、HCV ジ

エノタイプ 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活性は、3.2-55 分の 1 に低下した。ジェノタイプ 6a において 168 位の変異によりグレカプレビルの活性は 38-191 分の 1 に低下した (表 2.6.2-4)。

表 2.6.2-4. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS3 耐性変異に対するグレカプレビルの抗 HCV 活性

GT	NS3 Amino Acid Substitution(s) ²	N	Mean EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , nM, ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
1a-H77	Wild-Type	11	0.21 ± 0.08	0.77 ± 0.24	-	100
	V36A	3	0.18 ± 0.01	1.1 ± 0.16	0.8	130
	V36L	3	0.16 ± 0.02	1.2 ± 0.10	0.8	82
	V36M	8	0.28 ± 0.10	1.1 ± 0.31	1.4	81
	<u>Q41R</u>	<u>3</u>	<u>0.33 ± 0.07</u>	<u>1.7 ± 0.75</u>	<u>1.6</u>	<u>36</u>
	F43L	3	0.05 ± 0.01	0.27 ± 0.03	0.3	17
	T54S	3	0.20 ± 0.06	0.79 ± 0.22	1.0	6.2
	V55I	3	0.05 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.2	81
	Y56H	9	0.21 ± 0.06	1.9 ± 0.74	1.0	3.5
	Q80K	6	0.19 ± 0.05	0.65 ± 0.06	0.9	91
	Q89R	3	0.34 ± 0.10	1.5 ± 0.50	1.6	105
	R155K	14	0.11 ± 0.03	0.48 ± 0.15	0.5	31
	R155M	3	0.18 ± 0.02	0.86 ± 0.16	0.9	5.6
	R155S	3	0.34 ± 0.12	2.4 ± 0.32	1.6	2.1
	R155T	3	0.39 ± 0.14	2.0 ± 0.71	1.9	5.1
	R155V	3	0.21 ± 0.06	1.8 ± 0.30	1.0	20
	A156G	3	0.13 ± 0.03	1.1 ± 0.03	0.6	45
	<u>A156T</u>	<u>6</u>	<u>286 ± 92.8</u>	<u>1527 ± 380</u>	<u>1361</u>	<u>5.2</u>
	<u>A156V</u>	<u>5</u>	<u>NA</u>	<u>NA</u>	<u>=</u>	<u><0.5</u>
	D168A	3	0.84 ± 0.45	7.5 ± 6.8	4.0	35
	D168E	6	0.27 ± 0.09	1.7 ± 0.83	1.3	34
	D168F	3	11.5 ± 0.18	18.9 ± 1.4	55	4.0
	D168H	3	0.91 ± 0.21	7.0 ± 1.8	4.3	24
	D168N	3	0.08 ± 0.01	0.60 ± 0.04	0.4	28
	D168V	4	0.93 ± 0.28	8.8 ± 2.9	4.4	1.5
	D168Y	10	8.6 ± 3.5	24.8 ± 10.1	41	3.5
	<u>I170V</u>	<u>3</u>	<u>0.21 ± 0.03</u>	<u>1.1 ± 0.25</u>	<u>1.0</u>	<u>77</u>
	V36M + R155K	3	0.14 ± 0.03	0.60 ± 0.01	0.7	29
	<u>Y56H + D168A</u>	<u>3</u>	<u>8.2 ± 1.8</u>	<u>33.3 ± 3.8</u>	<u>39</u>	<u>46</u>
	Y56H + D168V	3	8.9 ± 1.2	46.8 ± 18.6	42	15
	Y56H + D168Y	3	9.4 ± 3.7	34.8 ± 13.1	45	1.1
	<u>Q89R + A156T</u>	<u>3</u>	<u>753 ± 30.9</u>	<u>>10000</u>	<u>3585</u>	<u>1.0</u>

表 2.6.2-4. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS3 耐性変異に対するグレカプレビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS3 Amino Acid Substitution(s) ^a	N	Mean EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , nM, ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
1a-H77	R155T + D168N	3	5.9 ± 0.71	28.5 ± 12.1	28	52
	V36M + Y56H + D168A	3	33.9 ± 1.3	116 ± 2.4	162	35
	V36M + Y56H + D168E	3	26.7 ± 1.6	101 ± 16.7	127	1.6
	Y56H + A156G + D168A	3	NA	NA	-	< 0.5
	R155K + A156V + D168A	3	NA	NA	-	< 0.5
1b-Con1	Wild-Type	10	0.47 ± 0.13	1.9 ± 0.51	-	100
	T54A	3	0.45 ± 0.10	1.9 ± 0.59	1.0	59
	T54S	3	NA	NA	-	< 0.5
	V55A	3	0.21 ± 0.03	2.2 ± 0.89	0.4	14
	Y56H	6	NA	NA	-	< 0.5
	P89L	4	1.1 ± 0.21	3.7 ± 0.77	2.4	172
	R155K	3	0.27 ± 0.11	1.5 ± 0.10	0.6	73
	R155Q	3	NA	NA	-	< 0.5
	A156S	3	0.20 ± 0.08	2.0 ± 1.1	0.4	61
	<u>A156T</u>	<u>6</u>	<u>301 ± 61.6</u>	<u>1545 ± 508</u>	<u>640</u>	<u>19</u>
	<u>A156V</u>	<u>7</u>	<u>839 ± 181</u>	<u>3440 ± 547</u>	<u>1786</u>	<u>9.2</u>
	D168A	3	0.69 ± 0.11	1.8 ± 0.05	1.5	69
	D168E	6	0.40 ± 0.08	1.8 ± 0.55	0.9	80
	D168F	3	2.5 ± 0.08	10.3 ± 0.27	5.3	105
	D168H	3	0.68 ± 0.05	3.1 ± 0.21	1.4	108
	D168K	3	5.3 ± 0.38	20.6 ± 2.0	11	50
	D168V	6	1.5 ± 0.43	5.9 ± 1.5	3.2	157
	D168Y	3	0.99 ± 0.11	4.5 ± 0.18	2.1	70
	Y56H + D168A	3	8.0 ± 1.5	32.0 ± 6.1	17	6.0
	Y56H + D168E	6	NA	NA	-	< 0.5
	Y56H + D168V	3	7.2 ± 1.3	32.9 ± 3.4	15	22
	Y56H + D168Y	3	35.6 ± 4.6	73.1 ± 7.9	76	8.0
	<u>P89L + A156V</u>	<u>3</u>	<u>1994 ± 729</u>	<u>5894 ± 1885</u>	<u>4243</u>	<u>119</u>
<u>A156V + D168V</u>	<u>3</u>	<u>2465 ± 1321</u>	<u>6167 ± 649</u>	<u>5244</u>	<u>17</u>	

表 2.6.2-4. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS3 耐性変異に対するグレカプレビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS3 Amino Acid Substitution(s) ^a	N	Mean EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , nM, ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
2a-JFH1	Wild-Type	18	2.5 ± 0.69	6.2 ± 1.4	-	100
	<u>G15D</u>	<u>3</u>	<u>1.1 ± 0.10</u>	<u>4.0 ± 0.33</u>	<u>0.5</u>	<u>85</u>
	V55A	3	2.3 ± 0.32	5.6 ± 0.52	0.9	51
	Y56H	6	1.4 ± 0.25	3.8 ± 0.52	0.6	125
	<u>A156T</u>	<u>3</u>	<u>541 ± 76.9</u>	<u>957 ± 184</u>	<u>216</u>	<u>69</u>
	<u>A156V</u>	<u>3</u>	<u>2857 ± 235</u>	<u>4203 ± 367</u>	<u>1143</u>	<u>43</u>
	D168A	6	4.8 ± 1.3	9.3 ± 2.0	1.9	75
	D168E	12	8.1 ± 1.9	16.1 ± 3.1	3.3	116
	D168V	3	4.9 ± 0.79	13.2 ± 0.91	2.0	129
	D168Y	3	6.0 ± 1.3	17.7 ± 2.9	2.4	107
	<u>G15D + A156T</u>	<u>3</u>	<u>871 ± 93.1</u>	<u>1647 ± 329</u>	<u>348</u>	<u>64</u>
	<u>G15D + A156V</u>	<u>3</u>	<u>3470 ± 352</u>	<u>5646 ± 906</u>	<u>1388</u>	<u>49</u>
	Y56H + D168A	3	2.3 ± 1.2	7.8 ± 1.2	0.9	85
	Y56H + D168E	3	4.6 ± 0.77	14.3 ± 0.88	1.8	61
	Y56H + D168V	3	7.5 ± 0.85	28.7 ± 8.2	3.0	100
2b	Wild-Type	12	3.1 ± 0.46	8.9 ± 1.4	-	-
	<u>A156M</u>	<u>3</u>	<u>3370 ± 292</u>	<u>4347 ± 653</u>	<u>1087</u>	=
	<u>A156T</u>	<u>3</u>	<u>460 ± 172</u>	<u>788 ± 165</u>	<u>148</u>	=
	<u>A156V</u>	<u>3</u>	<u>4510 ± 1726</u>	<u>4298 ± 297</u>	<u>1455</u>	=
	D168A	9	3.9 ± 1.0	10.9 ± 2.7	1.3	-
	D168E	6	6.6 ± 1.8	13.4 ± 3.7	2.1	-
	D168V	9	9.1 ± 1.2	23.6 ± 4.4	2.9	-
	D168Y	3	6.6 ± 1.1	16.7 ± 1.9	2.1	-
3a	Wild-Type	10	0.55 ± 0.17	7.2 ± 2.8	-	-
	Y56H	3	NA	NA	-	-
	Q80R	3	11.5 ± 1.6	296 ± 122	21	-
	R155K	3	0.28 ± 0.03	2.7 ± 1.1	0.5	-
	<u>A156G</u>	<u>3</u>	<u>909 ± 349</u>	<u>3245 ± 463</u>	<u>1654</u>	=
	S166A	2	NA	NA	-	-
	S166T	8	2.6 ± 0.58	75.5 ± 40.9	4.7	-
	Q168H	3	0.40 ± 0.07	9.0 ± 4.2	0.7	-
	Q168K	3	NA	NA	-	-

表 2.6.2-4. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS3 耐性変異に対するグレカプレビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS3 Amino Acid Substitution(s) ²	N	Mean EC ₅₀ , nM, ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , nM, ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
3a (Continued)	Q168L	3	6.9 ± 1.7	211 ± 178	13	-
	Q168R	3	30.0 ± 10.4	305 ± 141	54	-
	Y56H + A156G	3	NA	NA	-	-
	Y56H + S166A	2	NA	NA	-	-
	Y56H + S166T	3	NA	NA	-	-
	Y56H + Q168K	3	NA	NA	-	-
	Y56H + Q168L	6	NA	NA	-	-
	Y56H + Q168R	3	763 ± 363	4259 ± 1280	1387	-
	Q80R + S166T	3	29.8 ± 2.4	904 ± 180	54	-
	S166A + Q168L	2	NA	NA	-	-
	S166A + Q168R	2	NA	NA	-	-
	Y56H + S166A + Q168L	2	NA	NA	-	-
Y56H + S166A + Q168R	2	NA	NA	-	-	
4a	Wild Type	4	0.67 ± 0.23	2.8 ± 0.66	-	-
	R155C	3	1.7 ± 0.47	9.2 ± 1.5	2.6	-
	<u>A156T</u>	<u>3</u>	<u>962 ± 374</u>	<u>1511 ± 603</u>	<u>1436</u>	=
	<u>A156V</u>	<u>3</u>	<u>2081 ± 817</u>	<u>6561 ± 3150</u>	<u>3106</u>	=
	D168H	3	14.6 ± 6.1	29.5 ± 2.9	22	-
	D168V	3	6.5 ± 3.0	24.5 ± 1.4	9.7	-
	4d	Wild Type	3	0.15 ± 0.04	0.88 ± 0.08	-
Y56H		3	0.69 ± 0.14	5.8 ± 2.9	4.6	-
D168V		3	0.28 ± 0.12	1.6 ± 0.16	1.9	-
Y56H + D168V		3	8.7 ± 0.56	26.3 ± 3.8	58	-
6a	Wild Type	3	0.15 ± 0.03	1.0 ± 0.57	-	-
	D168A	3	12.2 ± 5.8	32.0 ± 1.8	81	-
	D168G	3	28.6 ± 6.5	59.2 ± 22.1	191	-
	D168H	3	22.0 ± 5.7	77.7 ± 17.0	146	-
	D168V	3	5.8 ± 2.2	24.3 ± 0.82	38	-
	D168Y	3	16.3 ± 4.0	34.2 ± 4.6	109	-

NS3 = non-structural protein 3; NA = not available, the EC₅₀ and EC₉₀ could not be determined due to low replication efficiency of the replicon containing the amino acid substitution

a. Amino acid substitutions selected by Glecaprevir *in vitro* are underlined.

b. Replication efficiency not reported for chimeric replicons.

グレカプレビルの抗 HIV-1 及び HBV 活性

(R&D/12/716 [4.2.1.1-2 項], 概要表 2.6.3.2.1)

グレカプレビルのヒト免疫不全ウイルス (以下「HIV」) -1 型又は B 型肝炎ウイルス (以下「HBV」) に対する *in vitro* 抗ウイルス活性の EC₅₀ は、それぞれ、>22000 nM 及び >32000 nM であったことから、グレカプレビルは、抗 HIV-1 及び抗 HBV 活性を示さないと考えられた。

2.6.2.2.2 ピブレンタスビルの効力を裏付ける試験

ピブレンタスビルの *in vitro* 抗ウイルス活性

(R&D/12/717 [4.2.1.1-6 項], R&D/12/567 [4.2.1.1-7 項], R&D/16/0964 [4.2.1.1-1 項],
概要表 2.6.3.2.2)

ピブレンタスビルは、HCV ジェノタイプ 1a-H77, 1b-Con1, 2a-JFH1 サブジェノミックレプリコン及び HCV ジェノタイプ 2a, 2b, 3a, 4a, 5a 又は 6a の NS5A 領域を挿入したキメラレプリコンの複製を阻害し、EC₅₀ は 1.4 - 5.0 pM であった。40%ヒト血漿存在下では、GT1a-H77 及び 1b-Con1 レプリコンに対する阻害活性は 36 分の 1 から 47 分の 1 に低下し、EC₅₀ 値はそれぞれ 64 pM 及び 200 pM であった。HCV ジェノタイプ 1-6 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、EC₅₀ の中央値は 1.1 pM (0.27-3.5 pM) であった。ピブレンタスビルの MTT アッセイにおける細胞毒性の中央値は 3200000 pM であったことから、*in vitro* 選択性は、1000000 倍超であった (表 2.6.2-5)。

表 2.6.2-5. ピブレンタスビルの *in vitro* 抗ウイルス活性

Strain/Isolate	n	Mean EC ₅₀ , pM, ± Std. Dev.	EC ₅₀ Range, pM	Comments
Activity against HCV subgenomic replicon-containing stable cell lines				
GT1a-H77	10	1.8 ± 0.86	-	-
GT1b-Con1	12	4.3 ± 1.7	-	-
GT2a JFH-1	4	5.0 ± 0.60	-	-
GT2a	5	2.3 ± 0.65	-	NS5A chimeric replicon
GT2b	5	1.9 ± 0.59	-	NS5A chimeric replicon
GT3a	5	2.1 ± 0.66	-	NS5A chimeric replicon
GT4a	5	1.9 ± 0.61	-	NS5A chimeric replicon
GT5a	5	1.4 ± 0.36	-	NS5A chimeric replicon
GT6a	5	2.8 ± 0.67	-	NS5A chimeric replicon
Activity against HCV subgenomic replicons containing NS5A from a panel of HCV clinical samples ^a				
GT1a	11	0.89	0.55 – 1.7	E62D (n=2)
GT1b	8	2.7	1.4 – 3.5	L31M (n=1), Q54H (n=1)
GT2a	6	0.93	0.52 – 1.9	L31M (n=5)
GT2b	11	1.3	1.1 – 1.9	M31L (n=7), M31L/M (n=2)
GT3a	14	0.71	0.47 – 1.7	A30K (n=3), A30T (n=1), Y93H (n=2)
GT4a	8	0.50	0.27 – 1.3	K24R (n=1), L28M (n=1), L30R (n=1), P58T (n=1)
GT4b	3	1.2	0.45 – 1.8	S30+T92A+H93 (n=1), S30L+P58T+T92A+H93Y (n=1), S30L+P58S+T92A+H93 (n=1)
GT4d	7	1.4	0.98 – 1.8	M31V+T58P (n=1), T58L/P/S (n=4)
GT5a	1	1.1	-	-
GT6a	3	0.74	0.63 – 1.0	F28L (n=2)
GT6e	1	0.83	-	K24R+V28M (n=1)
GT6p	1	0.50	-	-

GT = Genotype, NS5A = non-structural protein 5A

- a. Median EC₅₀ is provided for clinical samples (N = number of clinical samples). Number of samples in the panel with polymorphisms at amino acid positions 24, 28, 30, 31, 32, 54 (GT1b-only), 58, 62, 92 and 93, relative to the respective subtype specific reference sequence are listed in the 'comments' column.

ピブレンタスビルの HCV レプリコン細胞を用いた薬剤耐性変異の検討

(R&D/12/717 [4.2.1.1-6 項], R&D/16/0567 [4.2.1.1-7 項], R&D/16/0961 [4.2.1.1-4 項],
 概要表 2.6.3.2.2)

ピブレンタスビル存在下で HCV サブジェノミックレプリコン細胞を継代し、HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにより検出された特異的 NS5A 変異をそれぞれ対応した HCV サブジェノミックレプリコン細胞に組み込み、ピブレンタスビルの抗ウイルス活性 (EC₅₀ 及び EC₉₀) を検討した。また、臨床試験で検出された変異及び他の NS5A 阻害剤で報告されている変異についても同様に検討した。ピブレンタスビルの抗ウイルス活性について評価した変異のまとめを表 2.6.2-6 に示した。また、ピブレンタスビル存在下で継代したときに検出された変異を下線で示した (表 2.6.2-7)。

HCV ジェノタイプ 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4a, 5a 及び 6a レプリコン細胞を各ジェノタイプに対する EC₅₀ の 10 倍又は 100 倍量のピブレンタスビル存在下で継代培養し、ピブレンタスビルに対する NS5A の *in vitro* 耐性発現を検討した。EC₅₀ の 100 倍量のピブレンタスビル存在下ではジェノタイプ 1a-H77 を除くすべてのジェノタイプで生存コロニーは検出されず、ジェノタイプ 1a-H77 の生存率 0.0002%であった。EC₅₀ の 10 倍量のピブレンタスビル存在下で、ジェノタイプ 1b-Con1, 2b, 4a, 5a 及び 6a レプリコンを継代したとき、生存コロニーは検出されなかった。

表 2.6.2-6. ピブレンタスビルの HCV レプリコン細胞を用いた NS5A 薬剤耐性変異の検討

HCV replicon Genotype	10X	100X	1000X
	Amino Acid Substitutions in NS3 Detected Relative to Wild-type sequence (Prevalence ^a)		
1a-H77	Y93H (18/20) Y93N (1/20)	Q30D (1/4) Y93D (1/4) Q30deletion (1/4) H58D+Y93H (1/4)	NV
1b-Con1	NV	ND	ND
2a	F28S+M31I (2/3) P29S+K30G (1/3)	NV	ND
2b	NV	NV	ND
3a	Y93H (3/3)	NV	ND
4a	NV	NV	ND
5a	NV	NV	ND
6a	NV	NV	ND

NV = not viable, colonies did not survive selection; ND = not determined

a. Number of times this substitution was found out of the total number of colonies analyzed.

HCV ジェノタイプ 1a レプリコンにおいて、Y93H 又は Y93N によりピブレンタスビルの抗ウイルス活性は、7 分の 1 に低下した。一方、他の NS5A 阻害剤の耐性に関与する重要な変異である NS5A 領域の 24, 28, 30, 31, 58, 92 又は 93 位の変異により、ジェノタイプ 1-6 においてピブレンタスビルの活性に影響を及ぼさなかった。HCV ジェノタイプ 1a レプリコンにおいて、NS5A の変異として、M28G, Q30H/K/R, L31M/V, P32L, H58D 又は Y93C/H/N/S の共変異によりピブレンタスビルの活性は 3 分の 1 から 21824 分の 1 に低下した。HCV ジェノタイプ 3a レプリコンにおいて、NS5A の変異として、S24F, M28K, A30K, L31I 又は Y93H の共変異によりピブレンタスビルの活性は 3.3 分の 1 から 13742 分の 1 に低下した (表 2.6.2-7)。

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
1a-H77	Wild-Type	11	0.72 ± 0.45	1.8 ± 0.65	-	100
	K24R	4	0.25 ± 0.04	0.72 ± 0.03	0.3	172
	M28A	3	1.4 ± 0.34	4.7 ± 1.8	2.0	31
	M28G	3	176 ± 21.4	704 ± 281	244	55
	M28T	3	1.5 ± 1.1	4.1 ± 3.4	2.0	100
	M28V	3	1.3 ± 0.86	3.7 ± 2.1	1.8	87
	<u>Q30D</u>	<u>4</u>	<u>67.7 ± 37.0</u>	<u>244 ± 79.6</u>	<u>94</u>	<u>50</u>
	Q30E	3	1.7 ± 0.39	5.1 ± 0.71	2.4	70
	Q30G	3	0.93 ± 0.24	3.5 ± 1.2	1.3	47
	Q30H	3	0.74 ± 0.21	2.4 ± 1.2	1.0	64
	Q30K	6	0.69 ± 0.32	2.9 ± 0.91	1.0	36
	Q30L	3	0.21 ± 0.05	0.67 ± 0.07	0.3	52
	Q30R	3	1.2 ± 0.62	3.9 ± 2.1	1.7	60
	L31M	3	0.76 ± 0.11	1.6 ± 0.34	1.1	141
	L31V	3	0.96 ± 0.85	2.4 ± 1.4	1.3	241
	P32L	3	1.2 ± 0.43	5.1 ± 0.79	1.7	19
	H58C	3	0.68 ± 0.14	2.5 ± 0.90	0.9	111
	H58D	11	0.80 ± 0.17	3.9 ± 0.99	1.1	66
	H58P	4	0.46 ± 0.06	1.5 ± 0.20	0.6	129
	E62A	3	3.7 ± 0.15	12.2 ± 1.7	5.2	357
	A92T	3	0.28 ± 0.03	1.6 ± 0.22	0.4	4.1
	Y93C	4	1.2 ± 0.57	3.5 ± 2.1	1.7	24
	<u>Y93H</u>	<u>6</u>	<u>4.8 ± 1.5</u>	<u>22.9 ± 5.6</u>	<u>6.7</u>	<u>18</u>
	<u>Y93N</u>	<u>4</u>	<u>5.1 ± 2.1</u>	<u>19.6 ± 4.6</u>	<u>7.0</u>	<u>25</u>
	Y93S	4	1.2 ± 0.20	8.6 ± 1.1	1.6	3.4
	K24R + M28V	4	0.42 ± 0.05	1.4 ± 0.16	0.6	155
	K24R + M28T	4	0.41 ± 0.04	1.5 ± 0.23	0.6	107
	K24R + Q30R	4	0.29 ± 0.06	1.3 ± 0.12	0.4	83
M28G + Q30R	3	15713 ± 5580	113030 ± 34567	21824	66	
M28V + Q30H	3	0.33 ± 0.00	1.2 ± 0.01	0.5	71	

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
1a-H77	M28V + Q30R	4	0.82 ± 0.04	5.9 ± 0.34	1.1	17
	M28T + Q30R	3	1.2 ± 0.21	5.2 ± 1.3	1.6	32
	M28T + Y93C	3	2.2 ± 0.47	9.0 ± 2.5	3.1	22
	Q30H + Y93H	3	12.3 ± 1.2	59.8 ± 6.2	17	35
	Q30K + H58D	6	170 ± 40.7	1249 ± 283	235	166
	Q30K + Y93H	3	1286 ± 353	7584 ± 1641	1786	14
	Q30L + Y93H	3	0.42 ± 0.09	1.8 ± 0.44	0.6	30
	Q30R + L31M	6	2.1 ± 0.79	7.7 ± 2.8	3.0	49
	Q30R + H58D	6	91.0 ± 37.0	604 ± 280	126	50
	Q30R + Y93C	3	2.8 ± 0.64	11.1 ± 1.4	3.8	6.2
	Q30R + Y93H	3	187 ± 110	661 ± 331	260	21
	Q30R + Y93N	3	94.6 ± 15.5	647 ± 120	131	3.6
	L31M + H58D	3	16.6 ± 2.7	109 ± 46.9	23	214
	L31M + Y93C	3	4.4 ± 0.55	19.0 ± 3.6	6.1	32
	L31M + Y93H	3	54.3 ± 9.3	295 ± 42.0	75	11
	L31M + Y93N	3	140 ± 34.2	748 ± 202	195	31
	L31V + Y93H	3	67.8 ± 36.1	328 ± 97.5	94	20
	P32L + Y93C	4	124 ± 27.8	755 ± 144	172	0.5
	H58D + Y93C	4	168 ± 32.3	2392 ± 399	233	13
	<u>H58D + Y93H</u>	4	<u>1612 ± 272</u>	<u>7764 ± 2077</u>	<u>2238</u>	<u>13</u>
	H58D + Y93N	3	1418 ± 279	7773 ± 1700	1969	21
	H58D + Y93S	4	1058 ± 457	8701 ± 2752	1469	2.1
	M28G + Q30R + H58C	3	679 ± 115	7268 ± 3891	942	63
	M28T + Q30R + L31M	3	3.3 ± 0.41	14.2 ± 0.48	4.6	45
	Q30H + H58D + Y93H	3	6737 ± 1085	30913 ± 8712	9357	16
	Q30K + H58D + E62A	3	99.5 ± 3.9	543 ± 30.9	138	90
	Q30R + L31M + H58D	3	1227 ± 277	7298 ± 2203	1704	77
	Q30R + L31M + Y93C	3	30.0 ± 1.0	136 ± 5.9	42	7.1

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
1b-Con1	Wild-Type	12	1.9 ± 0.80	3.8 ± 1.2	-	100
	L28M	3	1.8 ± 0.11	3.5 ± 0.42	1.0	114
	R30Q	3	0.88 ± 0.49	2.2 ± 1.3	0.5	ND ^c
	L31F	3	2.3 ± 0.37	4.5 ± 0.91	1.2	127
	L31M	3	2.9 ± 1.2	5.8 ± 2.2	1.5	119
	L31V	3	1.5 ± 0.43	2.8 ± 0.62	0.8	86
	P32deletion	3	1968 ± 203	7459 ± 469	1036	40
	Q54Y	3	2.3 ± 0.89	7.1 ± 0.47	1.2	112
	P58S	3	2.4 ± 1.3	4.7 ± 2.0	1.2	80
	A92E	3	0.92 ± 0.23	2.7 ± 0.25	0.5	29
	Y93H	10	1.1 ± 0.27	3.9 ± 1.2	0.6	73
	Y93N	3	1.2 ± 0.25	3.7 ± 0.84	0.6	52
	Y93S	3	0.74 ± 0.24	3.0 ± 0.29	0.4	23
	R30Q + Y93H	3	2.3 ± 0.15	4.8 ± 0.40	1.2	60
	L31F + P32deletion	3	38877 ± 1227	83827 ± 2255	20461	94
	L31F + Y93H	3	2.8 ± 0.17	8.4 ± 2.1	1.5	35
	L31M + Y93H	3	1.3 ± 0.24	4.3 ± 0.41	0.7	11
	L31V + Y93H	3	1.7 ± 0.31	4.5 ± 0.38	0.9	24
	Q54Y + Y93H	3	2.0 ± 0.33	7.0 ± 0.56	1.0	34
	P58S + Y93H	3	1.5 ± 0.45	5.7 ± 2.5	0.8	34
L28M + R30Q + Y93H	3	1.0 ± 0.24	3.2 ± 0.29	0.5	28	
L31F + Q54H + A92E	3	3.2 ± 0.57	8.2 ± 1.3	1.7	70	
Q54H + A92V + Y93H	3	1.8 ± 0.70	5.2 ± 0.68	1.0	1.4	
2a	Wild Type ^d	14	0.99 ± 0.36	4.4 ± 1.6	-	-
	T24A	5	1.3 ± 0.30	4.5 ± 1.9	1.3	-
	T24S	3	1.0 ± 0.55	4.8 ± 2.2	1.1	-
	F28C	3	1.3 ± 0.21	4.5 ± 0.40	1.3	-
	F28S	3	1.2 ± 0.17	7.4 ± 0.75	1.2	-
	K30M	3	1.2 ± 0.16	4.6 ± 0.08	1.2	-

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
2a (Continued)	M31V	3	NA	NA	NA	-
	M31I	6	1.2 ± 0.22	5.6 ± 2.9	1.2	-
	C92S	3	1.6 ± 0.10	10 ± 2.9	1.6	-
	Y93H	3	NA	NA	NA	-
	T24A + M31L	3	0.80 ± 0.30	5.8 ± 2.3	0.8	-
	T24A + C92S	3	1.7 ± 0.23	5.1 ± 1.1	1.7	-
	T24S + F28C	3	1.4 ± 0.17	6.0 ± 2.8	1.4	-
	<u>F28S + M31I</u>	<u>3</u>	<u>14303 ± 2722</u>	<u>39977 ± 10415</u>	<u>14448</u>	=
<u>P29S + K30G</u>	<u>4</u>	<u>2.3 ± 0.36</u>	<u>12.9 ± 1.7</u>	<u>2.3</u>	=	
2b	Wild Type ^c	24	1.2 ± 0.39	4.8 ± 2.4	-	-
	L28F	10	0.94 ± 0.27	4.7 ± 1.6	0.8	-
	L31I	3	1.8 ± 0.15	4.9 ± 0.74	1.5	-
	L31M	3	1.5 ± 0.33	5.7 ± 2.3	1.2	-
	L31V	8	0.64 ± 0.20	2.8 ± 0.72	0.5	-
	C92S	12	1.1 ± 0.28	4.4 ± 1.6	0.9	-
	C92Y	6	0.69 ± 0.19	4.6 ± 1.5	0.6	-
	Y93H	4	NA	NA	NA	-
	L28F + L31I	3	1.3 ± 0.29	6.1 ± 2.4	1.1	-
	L28F + L31M	5	1.4 ± 0.27	8.4 ± 4.0	1.2	-
	L31M + C92Y	3	0.80 ± 0.15	4.6 ± 1.3	0.7	-
	L31V + C92S	3	0.59 ± 0.03	2.9 ± 0.28	0.5	-
	L28F + L31M + C92S	3	2.0 ± 0.54	14.3 ± 4.1	1.6	-
	3a	Wild-Type	16	0.65 ± 0.16	1.7 ± 0.27	-
S24F		3	NA	NA	NA	-
M28G		3	NA	NA	NA	-
M28K		3	NA	NA	NA	-
M28T		3	1.1 ± 0.02	2.1 ± 0.13	1.7	-
A30K		6	0.71 ± 0.18	2.8 ± 0.44	1.1	-
L31F		4	NA	NA	NA	-

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
3a (Continued)	L31I	3	NA	NA	NA	-
	Y93H	4	<u>1.5 ± 0.19</u>	<u>9.5 ± 2.8</u>	<u>2.3</u>	=
	S24F + M28K	3	173 ± 65.1	865 ± 82.2	267	-
	S24F + A30K	3	2.1 ± 0.14	4.4 ± 0.03	3.3	-
	M28K + A30K	3	NA	NA	NA	-
	A30K + L31I	3	2.4 ± 0.03	11.6 ± 2.3	3.6	-
	A30K + Y93H	3	45.1 ± 2.3	180 ± 17.4	69	-
	L31F + Y93H	3	NA	NA	NA	-
	L31I + Y93H	3	9.6 ± 1.5	58.3 ± 13.3	15	-
	S24F + M28K + A30K	3	8932 ± 1517	38547 ± 3825	13742	-
A30K + L31I + Y93H	3	2770 ± 353	9134 ± 1118	4262	-	
4a	Wild-Type	14	0.78 ± 0.14	2.0 ± 0.46	-	-
	L28I	3	0.80 ± 0.07	2.3 ± 0.38	1.0	-
	L28M	3	0.63 ± 0.17	1.8 ± 0.18	0.8	-
	L28V	3	0.85 ± 0.23	2.7 ± 1.5	1.1	-
	L30H	3	1.1 ± 0.51	2.6 ± 0.52	1.3	-
	P58L	3	0.75 ± 0.07	2.5 ± 0.81	1.0	-
	Y93H	3	NA	NA	NA	-
	L28I + P58L	3	1.3 ± 0.11	3.5 ± 1.1	1.7	-
4d	Wild-Type	15	1.5 ± 0.55	4.1 ± 1.2	-	-
	L28S	3	NA	NA	NA	-
	L28V	3	1.7 ± 0.29	8.2 ± 2.2	1.1	-
	M31I	3	2.1 ± 0.20	4.3 ± 0.56	1.4	-
	M31L	3	1.4 ± 0.28	4.6 ± 0.60	1.0	-
	T58A	3	1.8 ± 0.32	6.3 ± 0.95	1.2	-
	T58P	3	1.7 ± 0.31	6.7 ± 1.1	1.1	-
	T58S	3	1.5 ± 0.16	4.1 ± 0.32	1.0	-
	Y93H	4	NA	NA	NA	-

表 2.6.2-7. HCV ジェノタイプ 1-6 レプリコンにおける NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性 (続き)

GT	NS5A Amino Acid Substitution(s) ^a	n	Mean EC ₅₀ , pM ± Std. Dev.	Mean EC ₉₀ , pM ± Std. Dev.	Fold-Change in EC ₅₀	Replication Efficiency (%) ^b
4d (Continued)	L28V + T58S	3	1.7 ± 0.26	6.9 ± 0.87	1.1	-
	K24Q + T58P + Y93H	4	1.5 ± 0.27	6.3 ± 1.5	1.0	-
5a	Wild-Type	4	0.93 ± 0.20	4.3 ± 0.97	-	-
	L28I	3	0.98 ± 0.14	6.2 ± 2.3	1.1	-
	L31F	3	1.9 ± 0.11	10.5 ± 3.7	2.1	-
	L31V	3	0.75 ± 0.24	3.3 ± 0.69	0.8	-
6a	Wild-Type ^f	4	1.0 ± 0.31	3.3 ± 1.0	-	-
	L31V	3	1.0 ± 0.38	3.1 ± 0.67	1.0	-
	T58A	3	1.4 ± 0.45	4.5 ± 1.4	1.4	-
	T58N	3	1.8 ± 0.71	9.6 ± 3.4	1.8	-

GT = Genotype; NA = not available, the EC₅₀ and EC₉₀ could not be determined due to low replication efficiency of the replicon containing the amino acid substitution

- Amino acid substitutions selected by Pibrentasvir in vitro are underlined.
- Replication efficiency not reported for chimeric replicon.
- ND = not determined, the EC₅₀ was evaluated in clinical samples so replication efficiency was not evaluated.
- Relative to the 2a JFH1 reference sequence, NS5A GT2a cell line has L31M in NS5A.
- Relative to 2b HC-J8 reference sequence, NS5A GT2b cell line has M31L in NS5A.
- Relative to the 6a EUHK2 reference sequence, NS5A GT6a cell line has F28L in NS5A.

ピブレンタスビルの抗 HIV-1 及び HBV 活性

(R&D/12/717 [4.2.1.1-6 項], 概要表 2.6.3.2.2)

ピブレンタスビルの HIV-1 型又は HBV に対する *in vitro* 抗ウイルス活性の EC₅₀ は、それぞれ、>900 nM 及び >32000 nM であったことから、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。

2.6.2.2.3 HCV レプリコン細胞を用いたグレカプレビル及びピブレンタスビルの併用効果の検討

(R&D/13/030 [4.2.1.1-5 項], 概要表 2.6.3.2.2)

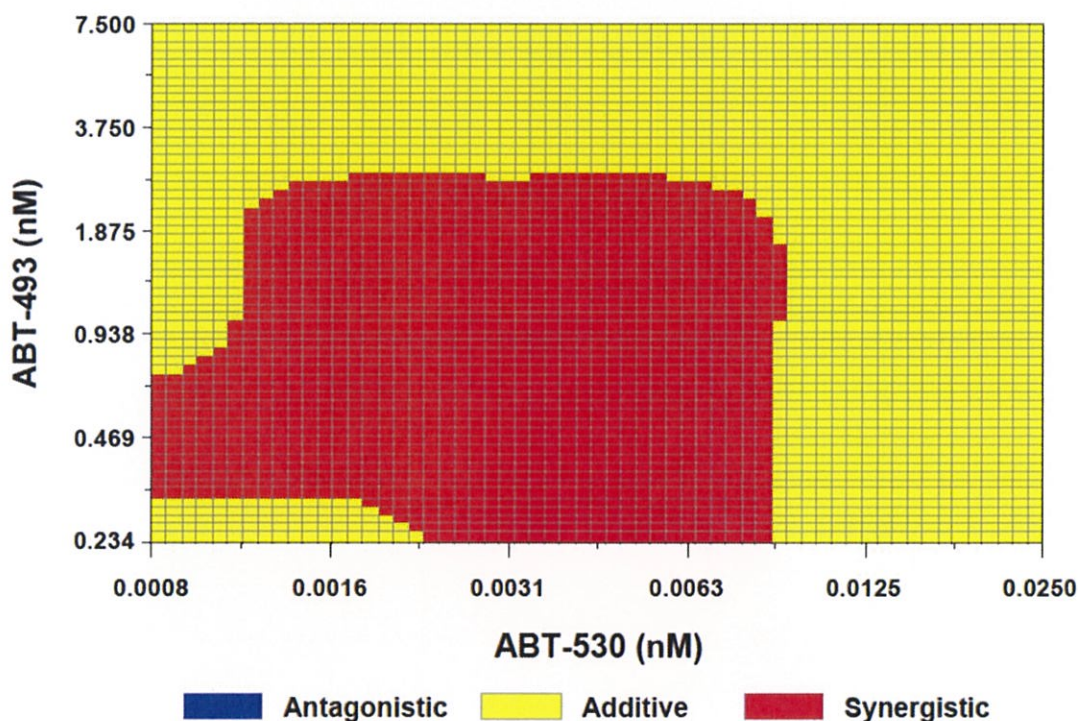
グレカプレビル及びピブレンタスビルの併用効果について、チェッカーボード法に従い、HCV ジェノタイプ 1b-Con1 レプリコンに 6 用量のグレカプレビル (0.234 - 7.5 nM) 及び 6 用量のピブレンタスビル (0.0008 - 0.025 nM) の組合せをそれぞれ添加し、得られた阻害率について、Prichard の方法により拮抗、相加又は相乗効果を判定した。この手法は、各試験で得られた個々の濃度-反応曲線から理論上の相加効果を算出する手法である。求めた理論上の相加性を実験よ

り得られた用量-反応グラフと比較し、異なる相互作用を示す領域を明らかにするために引き続き減算した。以下の計算式を用いて、理論上の相加効果を算出した。

$$Z = X + Y(1 - X) = X + Y - XY$$

Zは、薬剤 X 及び薬剤 Y の組合せによる阻害、X 及び Y は、それぞれ、薬剤 X 及び薬剤 Y の阻害を示している。併用効果がこの計算式により算出された理論上の相加効果を上回るかどうか判定するために、阻害率の実測値と理論上の阻害率の差を各濃度の組合せで添加したプレートごとに計算し、各併用濃度及び再現性（各プレート及び実験者ごと）それぞれについて実測値及び理論値の阻害率の平均値、標準誤差及び両側 95%信頼区間を算出した。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低用量群の組合せでは相乗効果を示したが、それぞれ用量を上げていくことで高用量群では相加効果を示した（図 2.6.2-1）。

図 2.6.2-1. HCV ジェノタイプ 1b-Con1 レプリコンにおけるグレカプレビル及びピブレンタスビルの併用効果（Prichard-Shipman モデル）



The contour plot displays the regions of concentration combinations with statistically significant synergistic, antagonistic, or additive antiviral activity. Figure 2.6.2-1 indicates that combinations of the drugs ABT-493 and ABT-530 tested display synergy or additivity. The concentration for each drug is in the scale of log2.

ABT-493: Glecaprevir, ABT-530: Pibrentasvir

HCV レプリコンを用いた耐性コロニーの発現を検討するため、HCV ジェノタイプ 1a-H77 又は 1b-Con1 レプリコンを導入した細胞を 15cm プレートに 10^6 cell/plate になるように培養し、グレカプレビル又はピブレンタスビル各 EC_{50} の 10 倍量又は 100 倍量を、併用時には各 EC_{50} の 10 倍量を併用し添加し継代培養した。G418 存在下で約 3 週間培養後、生存コロニー数を計数し、適用前のコロニー数に対する生存コロニー数を生存率として算出した。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 (表 2.6.2-8)。

ジェノタイプ 1 以外のレプリコン細胞は NS3 又は NS5A どちらかのみを導入したキメラレプリコンであるため、併用効果の評価には適していないことから、ジェノタイプ 1 以外のジェノタイプについては併用効果を検討しなかった。

表 2.6.2-8. *In vitro* レプリコン生存率の検討

Inhibitor	Concentration (fold over EC_{50})	Frequency of Surviving Colonies (%)	
		1a-H77	1b-Con1
Pibrentasvir	10	0.0065	0
	100	0.0002	0
Glecaprevir	10	0.0432	0.0467
	100	0.0029	0.0298
Pibrentasvir + Glecaprevir	10 + 10	0	0

2.6.2.2.4 交差耐性の検討

(R&D/12/716 [4.2.1.1-2 項], R&D/12/717 [4.2.1.1-6 項], R&D/16/0961 [4.2.1.1-4 項],
 概要表 2.6.3.2.2)

グレカプレビルの NS5A 領域における主要な耐性変異に対する抗 HCV 活性及びピブレンタスビルの NS3/4A 領域における主要な耐性変異に対する抗 HCV 活性を検討した結果、グレカプレビル及びピブレンタスビルはいずれも交差耐性を示さなかった (表 2.6.2-9)。また、HCV GT1a, 1b 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は、核酸ポリメラーゼ阻害剤の活性に重要な NS5B の S282T により活性の低下はみられず、非核酸型ポリメラーゼ阻害剤の活性に重要な NS5B の 316, 414, 448 及び 556 位の変異により活性の低下はみられなかった。

表 2.6.2-9. グレカプレビルの NS5A 耐性変異に対する交差耐性及びピブレンタスビルの NS3 耐性変異に対する交差耐性の検討

GT	NS3 Amino Acid Substitutions	Pibrentasvir EC ₅₀ , pM	Pibrentasvir Fold-Change in EC ₅₀	NS5A Amino Acid Substitutions	Glecaprevir EC ₅₀ , nM	Glecaprevir Fold-Change in EC ₅₀
1a-H77	Wild-Type	0.94	-	Wild-Type	0.46	-
	R155K	0.72	0.8	M28T	0.44	1.0
	D168A	0.77	0.8	M28V	0.50	1.1
	D168V	0.79	0.8	Q30D	0.31	0.7
				Q30R	0.59	1.3
				Y93C	0.57	1.2
				Y93H	0.52	1.1
				Y93N	0.60	1.3
1b-Con1	Wild-type	2.7	-	Wild-Type	0.33	-
	R155K	1.4	0.5	L28T	0.15	0.4
	A156T	1.4	0.5	Y93H	0.45	1.4
	D168V	2.5	0.9			

また、HCV NS3/4A 阻害剤として、グラゾプレビル、パリタプレビルについて、NS5A 阻害剤として、ダクラタスビル及びオムビタスビルについて、グレカプレビル及びピブレンタスビルの主要な耐性変異に対する抗 HCV 活性と比較した。

NS3 領域の耐性変異に対するグレカプレビル、パリタプレビル及びグラゾプレビルの抗 HCV 活性

(R&D/16/0961 [4.2.1.1-4 項], 概要表 2.6.3.2.1)

グレカプレビルは、NS3 領域の 156 位変異に対する抗 HCV 活性は低いものの、グラゾプレビル及びパリタプレビルと比較して 168 位の変異に対する抗 HCV 活性を保持していた。また、グレカプレビルは、グラゾプレビル及びパリタプレビルと比較して NS3 領域の主要な二重変異に対する抗 HCV 活性を保持していた。評価した典型的な変異について表 2.6.2-10 に示した。

表 2.6.2-10. NS3 変異を導入した HCV ジェノタイプ 1-4, 6 一過性レプリコンに対するグレカプレビル, パリタプレビル, グラゾプレビルの抗 HCV 活性

HCV Subtype	NS3 Amino Acid Substitutions	Glecaprevir Fold-Change in EC ₅₀	Grazoprevir Fold-Change in EC ₅₀	Paritaprevir Fold-Change in EC ₅₀
1a	V36L	0.8	1.6	2
	V36M	1.4	1.9	2
	F43L	0.3	1.4	20
	T54S	1.0	ND	0.4
	V55I	0.2	0.7	1
	Y56H	1.0	16	3
	Q80K	0.9	1.8	3
	R155K	0.5	4.2	37
	R155M	0.9	5.1	1
	A156T	1361	ND	17
	D168A	4.0	154	50
	D168E	1.3	33	14
	D168V	4.4	211	96
	D168Y	41	379	219
	V36M + R155K	0.7	5.6	79
	F43L + R155K	0.8	8.1	99
	F43L + D168V	13	143	176
	Y56H + D168A	39	2065	352
	Y56H + D168V	42	1126	561
Y56H + D168Y	45	1232	451	
1b	T54A	1.0	ND	0.8
	V55A	0.4	ND	0.6
	R155K	0.6	ND	40
	A156T	640	ND	7
	D168A	1.5	ND	27
	D168E	0.9	4.1	4
	D168V	3.2	ND	159
	D168Y	2.1	ND	337
	Y56H + D168A	17	ND	700
	Y56H + D168V	15	ND	2472
	Y56H + D168Y	76	ND	4118

表 2.6.2-10. NS3 変異を導入した HCV ジェノタイプ 1-4, 6 一過性レプリコンに対するグレカプレビル, パリタプレビル, グラゾプレビルの抗 HCV 活性 (続き)

HCV Subtype	NS3 Amino Acid Substitutions	Glecaprevir Fold-Change in EC ₅₀	Grazoprevir Fold-Change in EC ₅₀	Paritaprevir Fold-Change in EC ₅₀
2a	Y56H	0.6	5.6	3.8
	D168A	1.9	13	18
	D168E	3.3	5.9	5.3
	D168V	2.0	ND	13
	D168Y	2.4	ND	13
2b	D168A	1.3	57	11
	D168E	2.1	5.7	2.2
	D168V	2.9	14	9.4
	D168Y	2.1	11	7.0
3a	Q80R	21	0.9	7
	R155K	0.5	0.1	5
	A156G	1654	ND	57
	Q168H	0.7	0.3	6
	Q168L	13	0.1	4
	Q168R	54	ND	29
4a	R155C	2.6	ND	59
	A156T	1436	ND	40
	A156V	3106	ND	155
	D168H	22	ND	252
	D168V	9.7	ND	323
4d	Y56H	4.6	ND	8
	D168V	1.9	ND	313
	Y56H + D168V	58	ND	12533

NS5A 領域の耐性変異に対するピブレンタスビル, オムビタスビル及びダクラタスビルの抗 HCV 活性

(R&D/16/0961 [4.2.1.1-4 項], 概要表 2.6.3.2.2)

ピブレンタスビル, オムビタスビル及びダクラタスビルの NS5A 領域の耐性変異に対する抗 HCV 活性を比較した。レジパスビル, velpatasvir, エルバスビルについては, 文献等で公表されている抗 HCV 活性をもとに比較した¹⁻⁷。オムビタスビル及びダクラタスビルと比較して, ピブレンタスビルは, 評価した臨床的意義のある単変異である, NS5A 領域の 24, 28, 30, 31 及

び 93 位の変異対して抗 HCV 活性を示し、活性の低下は 10 分の 1 未満であった。レジパスビル、velpatasvir、エルバスビルにおいて、文献的にこれらの NS5A 阻害剤に対して意義のある耐性を示す単変異は、NS5A 領域の 93 位であった。さらに、オムビタスビル及びダクラタスビルと異なり、レジパスビル、velpatasvir、エルバスビルの文献値と比較して、ピブレンタスビルは二重変異に対して抗 HCV 活性を示した。主要な NS5A 耐性変異に対するピブレンタスビル、オムビタスビル及びダクラタスビルの抗 HCV 活性を表 2.6.2-11 に示した。

表 2.6.2-11. NS5A 変異を導入した HCV ジェノタイプ 1-6 一過性レプリコンに対するピブレンタスビル、ダクラタスビル、オムビタスビル抗 HCV 活性

HCV Subtype	NS5A Amino Acid Substitutions	Pibrentasvir Fold-Change in EC ₅₀ ^a	Daclatasvir Fold-Change in EC ₅₀ ^a	Ombitasvir Fold-Change in EC ₅₀ ^a
1a	M28T	2	437	8965
	M28V	1.8	1.0	58
	Q30E	2.4	-	1326
	Q30H	1.0	154	3
	Q30R	1.7	178	800
	L31M	1.1	140	2
	L31V	1.3	614	155
	H58D	1.1	124	243
	Y93C	1.7	383	1675
	Y93H	6.7	2324	41383
	Y93N	7.0	8641	66740
	Q30R+L31M	3	16785	504
	Q30R + H58D	126	64004	320751
	Q30R+Y93H	260	-	351081
L31M+Y93C	6.1	-	1973	
1b	L28M	1.0	1.2	2.0
	L31F	1.2	1.4	10
	L31M	1.5	1.4	0.9
	L31V	0.8	2.5	8
	Y93H	0.6	7.3	77
	L31V + Y93H	0.9	1225	12328

表 2.6.2-11. NS5A 変異を導入した HCV ジェノタイプ 1-6 一過性レプリコンに対するピブレンタスビル, ダクラタスビル, オムビタスビル抗 HCV 活性 (続き)

HCV Subtype	NS5A Amino Acid Substitutions	Pibrentasvir Fold-Change in EC ₅₀ ²	Daclatasvir Fold-Change in EC ₅₀ ²	Ombitasvir Fold-Change in EC ₅₀ ³
2a	T24A	1.3	-	38
	T24S	1.1	-	67
	F28C	1.3	-	501
	F28S	1.2	-	11618
2b	L28F	0.8	-	47
	L31I	1.5	-	28
	L31M	1.2	-	1.5
	L31V	0.5	-	511
3a	M28T	1.7	-	659
	A30K	1.1	44	-
	Y93H	2.3	2154	6728
4a	L28V	1.1	-	21
5a	L28I	1.1	-	79
	L31F	2.1	-	289
	L31V	0.8	-	243
6a	L31V	1.0	-	68
	T58A	1.4	-	18
	T58N	1.8	-	101

2.6.2.3 副次的薬理試験

副次的薬理試験において、各試験におけるグレカプレビル及びピブレンタスビルの添加濃度と臨床試験における曝露量比の算出には、グレカプレビル水和物/ピブレンタスビル配合錠を用いた国内第 III 相臨床試験 (M15-594 及び M15-828 試験) の母集団薬物動態解析より得られた C_{max} 値 (グレカプレビル: 1170 ng/mL, ピブレンタスビル: 165 ng/mL) を用いた (2.7.2 項)。

2.6.2.3.1 グレカプレビルの受容体結合性

(R&D/12/708 [4.2.1.2-1 項], R&D/16/0981 [4.2.1.2-2 項], 概要表 2.6.3.3.1)

受容体結合性試験において、10 µM (ヒト C_{max} の 7.2 倍) のグレカプレビルを添加したとき、79 種の受容体、イオンチャネル又はトランスポーターに対して 50%を超えるリガンド特異的結

合の置換は、クロライドチャンネル (55%) でみられ、 IC_{50} は、 $11 \mu\text{M}$ (ヒト C_{max} の 7.9 倍) であった。

2.6.2.3.2 ピブレンタスビルの受容体結合性

(R&D/12/750 [4.2.1.2-3 項], 概要表 2.6.3.3.1)

受容体結合性試験において、 $10 \mu\text{M}$ (ヒト C_{max} の 67.5 倍) のピブレンタスビルを添加したとき、79 種の受容体、イオンチャンネル及びトランスポーターに対していずれのリガンド結合に対しても、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。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験において、各試験におけるグレカプレビル及びピブレンタスビルの添加濃度又は血漿中濃度と臨床試験における曝露量比の算出には、グレカプレビル水和物/ピブレンタスビル配合錠を用いた国内第 III 相臨床試験 (M15-594 及び M15-828 試験) の母集団薬物動態解析より得られた C_{max} 値 (グレカプレビル: 1170 ng/mL , ピブレンタスビル: 165 ng/mL) を用いた (2.7.2 項)。

2.6.2.4.1 グレカプレビルの安全性薬理試験

グレカプレビルの中枢神経系に及ぼす影響

(R&D/11/999 [4.2.1.3-1 項], R&D/11/1267 [4.2.1.3-2 項], R&D/11/930 [4.2.3.2-GLE-5 項],
概要表 2.6.3.4.1)

ラットを用いた Irwin 法、自発運動量、痙攣誘発性及びエタノール誘発睡眠において、グレカプレビルは、最高用量の 100 mg/kg まで経口投与したとき、いずれの試験系においても作用はみられなかった。さらに、GLP に準拠したラットの機能観察評価により、グレカプレビルの中枢神経系に及ぼす影響を検討した。雌性ラット ($n=8$) にグレカプレビルを $5, 20, 60 \text{ mg/kg}$ の用量で経口投与したとき、最高用量 60 mg/kg ($C_{\text{max}} = 56.2 \mu\text{g/mL}$, ヒト C_{max} の 48 倍) まで中枢神経系に及ぼす影響はみられなかった。

グレカプレビルの心血管系に及ぼす影響

グレカプレビルの hERG 電流に及ぼす影響

(R&D/12/698 [4.2.1.3-3 項], R&D/16/0250 [4.2.1.3-4 項], 概要表 2.6.3.4.1)

グレカプレビルの再分極の遅延や QT 間隔延長作用を検討するため、ヒト胎児由来腎臓細胞 (以下「HEK-293 細胞」) に発現させたヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (以下「hERG」) チャンネルに及ぼす影響について検討した。

In vitro の hERG アッセイにおいて、グレカプレビルを終濃度 $24.7 \mu\text{g/mL}$ ($n=4$, ヒト C_{max} の 21.1 倍) で評価したとき、hERG テール電流を 28.8%減少させた。また、hERG アッセイを ICH ガイドラインに従い GLP 下でおこなった。グレカプレビルを $8.4, 25, 84 \mu\text{g/mL}$ ($n=3$) を適用

したとき、hERG テール電流をそれぞれ、1.3%、17.4%、47.9%減少させ、IC₅₀ は、85.6 µg/mL (ヒト C_{max} の 73.2 倍) であった。

グレカプレビルの麻酔イヌにおける心血管系に及ぼす影響

(R&D/12/643 [4.2.1.3-5 項], 概要表 2.6.3.4.1)

麻酔イヌにおけるグレカプレビルの心血管系に及ぼす影響を検討した。麻酔イヌ (n=6) にグレカプレビル 3 用量を漸増静脈内持続投与したとき、最高血漿中濃度 110 µg/mL (ヒト C_{max} の 94 倍) まで心血管系に影響を及ぼさなかった。

グレカプレビルの覚醒イヌにおける心血管系に及ぼす影響

(R&D/11/1269 [4.2.1.3-6 項], R&D/11/925 [4.2.3.2-GLE-8 項], 概要表 2.6.3.4.1)

覚醒イヌにおけるグレカプレビルの心血管系に及ぼす影響を GLP 下で検討した。雄性イヌ (n=6) にグレカプレビルを 10, 30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したとき、最高用量の 100 mg/kg (C_{max} = 85.8 µg/mL, ヒト C_{max} の 73.3 倍) まで、電気生理学的パラメータ (心拍数, PR 間隔, QRS 間隔, QTc 間隔) 及び平均動脈圧に影響を及ぼさなかった。

グレカプレビルの呼吸系に及ぼす影響

(R&D/11/1268 [4.2.1.3-7 項], R&D/11/930 [4.2.3.2-GLE-5 項], 概要表 2.6.3.4.1)

グレカプレビルの呼吸系に及ぼす影響について、ラットの全身プレチスモグラフにより GLP 下で検討した。雄性ラット (n=8) にグレカプレビルを 5, 20, 60 mg/kg の用量で経口投与したとき、20 mg/kg (C_{max} = 31.1 µg/mL, ヒト C_{max} の 16.2 倍) まで、呼吸機能に影響を及ぼさなかった。60 mg/kg (C_{max} = 56.7 µg/mL, ヒト C_{max} の 48.5 倍) の用量で、わずかに呼吸数が増加し、1 回換気量を減少させたが、評価したすべての用量で全換気量 (1 分間換気量) に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2 ピブレンタスビルの安全性薬理試験

ピブレンタスビルの中樞神経系に及ぼす影響

(R&D/11/1100 [4.2.1.3-8 項], R&D/12/371 [4.2.1.3-9 項], R&D/12/138 [4.2.3.2-PIB-4 項],
概要表 2.6.3.4.2)

マウス自発運動量において、ピブレンタスビルは最高用量の 60 mg/kg まで運動量に影響を及ぼさなかった。さらに、GLP に準拠したマウスの機能観察評価により、ピブレンタスビルの中樞神経系に及ぼす影響を検討した。雌性マウス (n=8) にピブレンタスビルを 3, 10, 100 mg/kg の用量で経口投与したとき、最高用量 100 mg/kg (C_{max} = 9.8 µg/mL, ヒト C_{max} の 59.4 倍) まで中樞神経系に及ぼす影響はみられなかった。

ピブレンタスビルの心血管系に及ぼす影響 ピブレンタスビルの hERG 電流に及ぼす影響

(R&D/12/699 [4.2.1.3-10 項], R&D/16/0251 [4.2.1.3-11 項], 概要表 2.6.3.4.2)

ピブレンタスビルの再分極の遅延や QT 間隔延長作用を検討するため、HEK-293 細胞に発現させた hERG チャネルに及ぼす影響について検討した。

In vitro の hERG アッセイにおいて、ピブレンタスビルを終濃度 0.51 µg/mL (n=5, ヒト C_{max} の 3.1 倍) で評価したとき、hERG テール電流を 8.4%減少させた。

また、hERG アッセイを ICH ガイドラインに従い GLP 下でおこなった。ピブレンタスビルを溶解可能な最高用量である 1.113 µg/mL (ヒト C_{max} の 6.7 倍) を適用したとき、有意な hERG テール電流の阻害 (2%未満) を示さなかった。

ピブレンタスビルの麻酔イヌにおける心血管系に及ぼす影響

(R&D/12/664 [4.2.1.3-12 項], 概要表 2.6.3.4.2)

麻酔イヌにピブレンタスビルを漸増静脈内持続投与し、ピブレンタスビルの心血管系への影響を検討した。ピブレンタスビルは、最高血漿中濃度の 1.5 µg/mL (ヒト C_{max} の 9.1 倍) まで心血管系に影響を及ぼさなかった。

ピブレンタスビルの覚醒イヌにおける心血管系に及ぼす影響

(R&D/12/373 [4.2.1.3-13 項], R&D/12/345 [4.2.3.4.2.3.2-PIB-9 項], 概要表 2.6.3.4.2)

覚醒イヌにピブレンタスビルを 3, 10 及び 100 mg/kg を経口投与し、心血管系への影響を GLP 下で検討した。雄性イヌ (n=6) にピブレンタスビルを 3, 10, 100 mg/kg の用量で経口投与したとき、最高投与量の 100 mg/kg (C_{max}=2.2 µg/mL, ヒト C_{max} の 13.3 倍) まで電気生理学的パラメータ (心拍数, PR 間隔, QRS 間隔及び QTc 間隔) 並びに平均動脈圧への影響を示さなかった。

ピブレンタスビルの呼吸系に及ぼす影響

(R&D/12/372 [4.2.1.3-14 項], R&D/12/138 [4.2.3.2-PIB-4 項], 概要表 2.6.3.4.2)

ピブレンタスビルの呼吸系への影響をマウス全身プレチスモグラフにより、GLP 下で検討した。雄性マウス (n=8) にピブレンタスビルを 3, 10, 100 mg/kg の用量で経口投与したとき、最高経口投与量の 100 mg/kg (C_{max} = 6.3 µg/mL, ヒト C_{max} の 38.2 倍) まで呼吸機能への影響を示さなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1 グレカプレビルの抗レトロウイルス薬の抗 HIV-1 活性及び抗レトロウイルス薬のグレカプレビルの抗 HCV 活性に及ぼす影響

(R&D/16/0569 [4.2.1.4-1 項], 概要表 2.6.3.5)

HIV-1 治療に使用されている代表的な HIV-1 プロテアーゼ阻害薬として、ロピナビル及びダルナビルのグレカプレビルとの併用による抗 HIV-1 活性に及ぼす影響と、グレカプレビルの抗

HCV 活性に及ぼす影響について検討した。HIV-1 pNL4-3 抗ウイルスアッセイにおいて、ロピナビル及びダルナビルの抗 HIV-1 活性の EC₅₀ は、それぞれ、23 nM 及び 10 nM であった。グレカプレビルを HCV ジェノタイプ 1b-Con1 レプリコンに対する EC₅₀ の 10 倍超である 9.6 nM で併用したとき、ロピナビル及びダルナビルの抗 HIV-1 活性を変化させず、ロピナビル及びダルナビルの濃度を 0.1 µM（それぞれ、抗 HIV-1 活性 EC₅₀ の約 5 倍及び 10 倍）の濃度で併用したとき、グレカプレビルの抗 HCV 活性に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

グレカプレビル及びピブレンタスビルは、*in vitro* 酵素阻害及び HCV レプリコン細胞において、HCV ジェノタイプ 1-6 に対し広範な抗 HCV 活性を示した。また、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主要な変異は 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の多くは 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。NS3 領域の 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。156 位の変異によりグレカプレビルの活性は 148 分の 1 から 3106 分の 1 に低下し、168 位の変異により活性は 3.2 分の 1 から 191 分の 1 に低下した。NS5A 領域の耐性発現の検討において、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。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。HCV ジェノタイプ 1a レプリコンにおいて、Y93H 又は Y93N 変異によりピブレンタスビルの活性の低下はわずかで（7 分の 1）、ジェノタイプ 1b に対するピブレンタスビルの抗 HCV 活性には影響せず、また、93 位以外の変異によりジェノタイプ 1 に対する活性の低下もみられなかった。また、他の主要な NS5A 領域の単変異（24, 28, 30, 31, 58, 92 又は 93 位）に対し HCV ジェノタイプ 1-6 で抗 HCV 活性を示した。ジェノタイプ 1a 及び 3a においていくつかの NS5A の共変異は、ピブレンタスビルの抗 HCV 活性を低下させた。

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。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。

以上の結果から、グレカプレビル及びピブレンタスビルは、それぞれ、NS3/4A プロテアーゼ及び NS5A の選択的な阻害により広範なジェノタイプに対して HCV 複製阻害作用を示し、また、グレカプレビル及びピブレンタスビルの併用により、相加又は相乗的な抗 HCV 活性を示すことが確認された。副次的薬理試験及び安全性薬理試験の結果から、臨床上特に問題となる作用はみられなかった。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1. Hernandez D, Zhou N, Ueland J, et al. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors. *J Clin Virol.* 2013;57:13-18.
2. Liu R, Curry S, McMonagle P, et al. Susceptibilities of genotype 1a, 1b, and 3 Hepatitis C virus variants to the NS5A inhibitor elbasvir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:6922-6929.
3. Wong KA, Worth A, Martin R, et al. Characterization of hepatitis C virus resistance from a multiple-dose clinical trial of the novel NS5A inhibitor GS-5885. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:6333-6340.
4. Cheng G, Tian Y, Doehle B, et al. In vitro antiviral activity and resistance profile characterization of the hepatitis C virus NS5A inhibitor ledipasvir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:1847-1853.
5. Cheng G, Tian Y, Yu M, et al. GS-5816, a second-generation HCV NS5A inhibitor with potent antiviral activity, broad genotype coverage, and a high resistance barrier. *EASL 48th annual meeting, April 24-28, The Netherlands, Amsterdam.* 2013.
6. Doehle B, Dvory-Sobol H, Hebner C, et al. Deep sequencing of HCV NS5A from a 3-day study of GS-5816 monotherapy confirms the potency of GS-5816 against pre-existing genotype 1-3 NS5A resistance-associated variants. *Hepatology.* 2013;58 (Suppl S1):208A-1309A.
7. Epclusa (sofosbuvir and velpatasvir). US package insert. Approval: 2016.

2.6.3 薬理試験概要表

目次

2.6.3	薬理試験概要表.....	1
2.6.3.1	薬理試験：一覧表.....	2
2.6.3.2	効力を裏付ける試験.....	7
2.6.3.2.1	グレカプレビルの効力を裏付ける試験.....	7
2.6.3.2.2	ピブレンタスビルの効力を裏付ける試験.....	10
2.6.3.3	副次的薬理試験.....	12
2.6.3.3.1	グレカプレビルの副次的薬理試験.....	12
2.6.3.3.2	ピブレンタスビルの副次的薬理試験.....	13
2.6.3.4	安全性薬理試験.....	14
2.6.3.4.1	グレカプレビルの安全性薬理試験.....	14
2.6.3.4.2	ピブレンタスビルの安全性薬理試験.....	16
2.6.3.5	薬力学的薬物相互作用試験.....	18

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test article: Glecaprevir

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4	
					vol.	Section
Primary Pharmacodynamics of Glecaprevir						
Enzyme Inhibition	Biochemical assays: HCV and mammalian proteases (activity and selectivity)	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/16/0964</u>	4	4.2.1.1-1
				<u>R&D/12/716</u>	4	4.2.1.1-2
Cell Culture Replicon Activity	Replicon cell culture: Activity against HCV genotypes 1-6, resistance selection assays, cell culture cytotoxicity assays	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/716</u>	4	4.2.1.1-2
				<u>R&D/16/0568</u>	4	4.2.1.1-3
				<u>R&D/16/0964</u>	4	4.2.1.1-1
Resistance in HCV replicons in cell culture	Cell culture: Activity against replicons containing amino acid substitutions in NS3	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/16/0961</u>	4	4.2.1.1-4
Antiviral Activity against HIV-1 and HBV	Cell culture: Activity against HIV-1 and HBV	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/716</u>	4	4.2.1.1-2
Combination with Pibrentasvir in cell culture	Cell culture: Two-drug combination studies	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/13/030</u>	4	4.2.1.1-5
In vitro cross-resistance	Cell culture: in-vitro cross resistance	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/716</u>	4	4.2.1.1-2
				<u>R&D/16/0961</u>	4	4.2.1.1-4
Secondary Pharmacodynamics of Glecaprevir						
Receptor binding	Receptors, ion channels. Transporters	<i>in vitro</i>	██████	<u>R&D/12/708</u>	4	4.2.1.2-1
				<u>R&D/16/0981</u>	4	4.2.1.2-2

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test article: Glecaprevir

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4	
					vol.	Section
Safety Pharmacology of Glecaprevir						
CNS						
CNS (Irwin, Locomotor, Pro-convulsant Activity and Ethanol-induce sleep)	Rat/Rj:Wistar (Han)	Oral	██████	<u>R&D/11/999</u>	4	4.2.1.3-1
CNS (FOB)	Rat/Crl:CD (SD)	Oral	██████████ AbbVie	<u>R&D/11/1267</u>	4	4.2.1.3-2
				<u>R&D/11/930</u>	4	4.2.3.2-GLE-5
Cardiovascular safety						
Effect on hERG Current	hERG expressed HEK293 cells	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/698</u>	4	4.2.1.3-3
Effect on hERG Current	hERG expressed HEK293 cells	<i>in vitro</i>	██████████	<u>R&D/16/0250</u>	4	4.2.1.3-4
Cardiovascular Safety in Anesthetized dog	Dog/Beagle	Intravenous	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/643</u>	4	4.2.1.3-5
Cardiovascular Safety in Conscious dog	Dog/Beagle	Oral	██████████	<u>R&D/11/1269</u>	4	4.2.1.3-6
				<u>R&D/11/925</u>	4	4.2.3.2-GLE-8
Respiratory safety						
Respiratory Safety	Rat/Crl:CD (SD)	Oral	██████████	<u>R&D/11/1268</u>	4	4.2.1.3-7
				<u>R&D/11/930</u>	4	4.2.3.2-GLE-5

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test article: Glecaprevir

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4	
					vol.	Section
Pharmacodynamic Drug Interactions						
Pharmacodynamic Drug Interactions	Cell culture: Impact of glecaprevir on anti-HIV-1 activity of lopinavir and darunavir; impact of lopinavir and darunavir on anti-HCV activity of glecaprevir	<i>in vitro</i>	AbbVie	R&D/16/0569	4	4.2.1.4-1

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test article: Pibrentasvir

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4	
					vol.	Section
Primary pharmacodynamics of Pibrentasvir						
Cell Culture Replicon Activity	Replicon cell culture: Activity against HCV genotypes 1-6, resistance selection assays, cell culture cytotoxicity assays	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/717</u>	4	4.2.1.1-6
				<u>R&D/16/0964</u>	4	4.2.1.1-1
				<u>R&D/16/0567</u>	4	4.2.1.1-7
Antiviral Activity against HIV-1 and HBV	Cell culture: Activity against HIV-1 and HBV	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/12/717</u>	4	4.2.1.1-6
Resistance in HCV replicons in cell culture	Cell culture: Activity against replicons containing amino acid substitutions in NS5A	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/16/0961</u>	4	4.2.1.1-4
Combination with Glecaprevir in cell culture	Cell culture: Two-drug combination studies	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/13/030</u>	4	4.2.1.1-5
In vitro cross-resistance	Cell culture: in vitro cross-resistance	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	<u>R&D/16/0961</u>	4	4.2.1.1-4
				<u>R&D/12/717</u>	4	4.2.1.1-6
Secondary Pharmacodynamics of Pibrentasvir						
Receptor binding	Receptors, ion channels. Transporters	<i>in vitro</i>	██████	<u>R&D/12/750</u>	4	4.2.1.2-3
Safety Pharmacology of Pibrentasvir						
CNS						
CNS (Locomotor activity)	Mouse/Rj: NMRI	Oral	██████	<u>R&D/11/1000</u>	4	4.2.1.3-8

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test article: Pibrentasvir

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4	
					vol.	Section
Safety Pharmacology of Pibrentasvir						
CNS						
CNS (FOB)	Mouse/Crl:CD1 (ICR)	Oral	██████████	R&D/12/371	4	4.2.1.3-9
				R&D/12/138	4	4.2.3.2-PIB-4
Cardiovascular safety						
Effect on hERG Current	hERG expressed HEK293 cells	<i>in vitro</i>	AbbVie Inc.	R&D/12/699	4	4.2.1.3-10
Effect on hERG Current	hERG expressed HEK293 cells	<i>in vitro</i>	██████████	R&D/16/0251	4	4.2.1.3-11
Cardiovascular Safety in Anesthetized dog	Dog/Beagle	Intravenous	AbbVie Inc.	R&D/12/664	4	4.2.1.3-12
Cardiovascular Safety in Conscious dog	Dog/Beagle	Oral	██████████	R&D/12/373	4	4.2.1.3-13 4.2.3.2-PIB-9
				R&D/12/345		
Respiratory safety						
Respiratory Safety	Mouse/Crl:CD1 (ICR)	Oral	██████████	R&D/12/372 R&D/12/138	4	4.2.1.3-14 4.2.3.2-PIB-4

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1 グレカプレビルの効力を裏付ける試験

Test Article: Glecaprevir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Enzyme inhibition	Enzyme assays	Assay of NS3 protease derived from HCV and the other common mammalian proteases	HCV NS3 protease Activity (IC ₅₀ , nM)	<u>R&D/16/0964</u>
			HCV genotype 1a: 4.6 HCV genotype 1b: 8.9 HCV genotype 2a: 3.5 HCV genotype 2b: 3.8 HCV genotype 3a: 7.9 HCV genotype 4a: 6.1 HCV genotype 5a: 8.1 HCV genotype 6a: 11.3 Human Protease Activities (Chymase, Elastase, Cathepsin B, Chymotrypsin Type II, Chymotrypsin Type VII, Kallikrein, Urokinase): IC ₅₀ > 200,000 nM	

2.6.3.2.1 グレカプレビルの効力を裏付ける試験

Test Article: Glecaprevir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Anti-viral assay for HCV	Cell culture assays	Assay the activity against HCV genotypes 1-6 replicons in cell culture	Inhibition of HCV replicons (EC ₅₀ , nM) HCV genotype 1a-H77: 0.85 (5.3) * HCV genotype 1b-Con1: 0.94 (10) * HCV genotype 2a JFH-1: 2.2 HCV genotype 2b: 4.6 HCV genotype 3a: 1.9 HCV genotype 4a: 2.8 HCV genotype 6a: 0.86 (* indicates EC ₅₀ (nM) in the presence of 40% human plasma.) Cytotoxicity (MTT assay) TD ₅₀ = 72,000 nM	R&D/12/716 R&D/16/0568 R&D/16/0964
Anti-viral activity against HIV-1 and HBV	Cell culture assays		HIV-1: EC ₅₀ > 22,000 nM HBV: EC ₅₀ > 32,000 nM	R&D/12/716
Resistance assessment in genotype 1-6 replicons in cell culture	Cell culture assays	HCV genotype 1-6 replicon cells were passaged in the presence of Glecaprevir.	Data is shown in Module 2.6.2, Table 3.	R&D/12/716 R&D/16/0568
Anti-viral activity of Glecaprevir and other NS3 inhibitors against HCV genotype 1-6 replicons containing NS3 substitutions	Cell culture assays	Assay the anti-viral activity against HCV genotype 1-6 replicons with NS3 amino acid substitutions.	Data is shown in Module 2.6.2, Table 4, Table 10	R&D/16/0961

2.6.3.2.1 グレカプレビルの効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Glecaprevir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Drug combination studies in HCV subgenomic replicons in cell culture	Cell culture assays	Antiviral activity of Glecaprevir and Pibrentasvir against HCV genotype 1 replicon cells	Combination of glecaprevir and pibrentasvir showed additive or synergistic inhibition of HCV replication in Genotype 1 replicon cells. There were no surviving colonies with the combination of Glecaprevir and Pibrentasvir each at 10-fold above its EC ₅₀ value in the HCV genotype 1a replicon cell line, leading to a greater than 65-fold reduction in colony survival as compared to each inhibitor alone at 10-fold above its EC ₅₀ value.	R&D/13/030
In vitro cross resistance	Cell culture assays	Antiviral activity of Glecaprevir against HCV genotype 1 replicon cells with key substitutions in NS5A or NS5B.	Glecaprevir does not show in vitro cross-resistance to substitutions in other targets, NS5A or NS5B. Data is shown in Module 2.6.2, Table 9	R&D/12/716 R&D/16/0961

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2.2 ピブレンタスビルの効力を裏付ける試験

Test Article: Pibrentasvir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Anti-viral assay for HCV	Cell culture assays	Assay the activities against HCV genotypes 1-6 replicons in cell culture	Inhibition of HCV replicons (EC ₅₀ , pM) HCV genotype 1a-H77: 1.8 (64) * HCV genotype 1b-Con1: 4.3 (200) * HCV genotype 2a JFH-1: 5.0 HCV genotype 1b, NS5A gene from genotype 2a 2.3 genotype 2b 1.9 genotype 3a: 2.1 genotype 4a: 1.9 genotype 5a: 1.4 genotype 6a: 2.8 (* indicates EC ₅₀ (pM) in the presence of 40% human plasma.) Cytotoxicity (MTT assay): TD ₅₀ > 32,000,000 pM	R&D/12/717 R&D/16/0964
Anti-viral assay against HIV-1 and HBV	Cell culture assays		HIV-1: EC ₅₀ > 900 nM HBV: EC ₅₀ > 32,000 nM	R&D/12/717

2.6.3.2.2 ピブレンタスビルの効力を裏付ける試験 (続き)

Test Article: Pibrentasvir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Resistance assessment in genotype 1-6 replicons in cell culture	Cell culture assays	HCV genotype 1-6 replicon cells were passaged in the presence of Pibrentasvir.	Data is shown in Module 2.6.2, Table 6.	R&D/12/717 R&D/16/0567
Anti-viral activity of Pibrentasvir and other NS5A inhibitors against HCV genotype 1-6 replicons containing NS5A substitutions	Cell culture assays	Assay the anti-viral activity against HCV genotype 1-6 replicons with NS5A amino acid substitutions.	Data is shown in Module 2.6.2, Table 7., Table 11	R&D/16/0961
In vitro cross resistance	Cell culture assays	Antiviral activity of Pibrentasvir against HCV genotype 1 replicon cells with key substitutions in NS3 or NS5B.	Pibrentasvir does not show in vitro cross-resistance to substitutions in other targets, NS3 or NS5B. Data is shown in Module 2.6.2, Table 9	R&D/12/717 R&D/16/0961

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.3.1 グレカプレビルの副次的薬理試験

Test Article: Glecaprevir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
Receptor Binding	Receptors, ion channels, and transporters	In vitro	10 μ M 0.1-30 μ M	n = 2	Displacement of control-specific binding > 50% only at the Cl ⁻ channel (IC ₅₀ = 11 μ M).	No	<u>R&D/12/708</u> <u>R&D/16/0981</u>

GLP = good laboratory practice

2.6.3.3.2 ピブレンタスビルの副次的薬理試験

Test Article: Pibrentasvir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
Receptor Binding	Receptors, ion channels, and transporters	In vitro	10 μ M	n = 2	No displacement of control-specific binding > 50% at any receptors, ion channels or transporters.	No	<u>R&D/12/750</u>

GLP = good laboratory practice

2.6.3.4 安全性薬理試験

2.6.3.4.1 グレカプレビルの安全性薬理試験

Test Article: Glecaprevir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
CNS/Neurobehavior							
Irwin, Locomotor, Pro convulsant Activity and Ethanol-induced sleep	Rat / Rj:Wistar (Han)	Oral	3, 10, 30 and 100 mg/kg	Male n = 4 - 20	No effects through 100 mg/kg.	No	R&D/11/999
Functional Observational Battery	Rat / Crl:CD (SD)	Oral	5, 20 and 60 mg/kg	Female n = 8	No neurobehavioral effects through 60 mg/kg ($C_{max} = 56.2 \mu\text{g/mL}$).	Yes	R&D/11/1267 R&D/11/930
Cardiovascular							
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	24.7 $\mu\text{g/mL}$	n = 4	28.8% inhibition of hERG tail current.	No	R&D/12/698
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	8.4, 25, and 84 $\mu\text{g/mL}$	n = 3	$IC_{50} = 85.6 \mu\text{g/mL}$.	Yes	R&D/16/0250
Cardiovascular	Dog / Beagle	Intravenous	1.7, 5.5 and 16.6 mg/kg/30min	Male n = 6	No cardiovascular effects through the highest plasma concentration of 110 $\mu\text{g/mL}$.	No	R&D/12/643

GLP = good laboratory practice; hERG = human ether-a-go-related gene; C_{max} = maximum observed concentration

2.6.3.4.1 グレカプレビルの安全性薬理試験（続き）

Test Article: Glecaprevir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
Cardiovascular (Cont.)							
Cardiovascular	Dog / Beagle	Oral	10, 30 and 100 mg/kg	Male n = 6	No effects on MAP, HR, or QTc through 100 mg/kg ($C_{max} = 85.8 \mu\text{g/mL}$).	Yes	R&D/11/1269 R&D/11/925
Respiratory							
Respiratory	Rat / CrI:CD (SD)	Oral	5, 20 and 60 mg/kg	Male n = 8	No effect on respiratory function through 20 mg/kg ($C_{max} = 31.1 \mu\text{g/mL}$). A dose of 60 mg/kg ($C_{max} = 56.7 \mu\text{g/mL}$) slightly increased respiratory rate and decreased tidal volume; total ventilatory capacity (minute volume) was not affected at any dose.	Yes	R&D/11/1268 R&D/11/930

GLP = good laboratory practice; MAP = mean arterial pressure; HR = heart rate; QTc = QT interval corrected for heart rate; C_{max} = maximum observed concentration

2.6.3.4.2 ピブレンタスビルの安全性薬理試験

Test Article: Pibrentasvir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
CNS/Neurobehavior							
Locomotor Activity	Mouse Rj: NMRI	Oral	0.6, 2, 6, 20, and 60 mg/kg	Male n = 10	No consistent effects.	No	R&D/11/1000
Functional Observational Battery	Mouse CrI:CD1(ICR)	Oral	3, 10, and 100 mg/kg	Female n = 8	No neurobehavioral effects through 100 mg/kg ($C_{max} = 9.8 \mu\text{g/mL}$).	Yes	R&D/12/371 R&D/12/138
Cardiovascular							
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	0.51 $\mu\text{g/mL}$	n = 5	8.4% inhibition of hERG tail current.	No	R&D/12/699
hERG Current	HEK 293 cells	In vitro	1.113 $\mu\text{g/mL}$	n = 3	<2% inhibition of hERG tail current.	Yes	R&D/16/0251
Cardiovascular	Dog/ Beagle	Intravenous	56, 187, and 562 $\mu\text{g/kg/30 min}$	Male n = 6	No cardiovascular effects through the highest plasma concentration of 1.5 $\mu\text{g/mL}$.	No	R&D/12/664
Cardiovascular	Dog/ Beagle	Oral	3, 10, and 100 mg/kg	Male n = 6	No effects on MAP, HR, or QTc through 100 mg/kg ($C_{max} = 2.2 \mu\text{g/mL}$).	Yes	R&D/12/373 R&D/12/345

GLP = good laboratory practice; hERG = human ether-a-go-go-related gene; MAP = mean arterial pressure; HR = heart rate; QTc = QT interval corrected for heart rate; C_{max} = maximum observed concentration

2.6.3.4.2 ピブレンタスビルの安全性薬理試験（続き）

Test Article: Pibrentasvir

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
Respiratory							
Respiratory	Mouse/ CrI:CD1(ICR)	Oral	3, 10, and 100 mg/kg	Male n = 8	No effect on respiratory rate, tidal volume or minute volume through 100 mg/kg (C_{max} = 6.3 μ g/mL).	Yes	R&D/12/372 R&D/12/138

GLP = good laboratory practice; C_{max} = maximum observed concentration

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

Test Article: Glecaprevir

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Anti-viral assay against HIV- HBV	Cell culture assays	Anti-HCV activity in HCV 1b- Con1 replicon cell and anti-HIV- 1 activity in pNL4-3 assay were evaluated.	Two representative HIV-1 protease inhibitors, lopinavir and darunavir do not influence on anti-HCV activity of Glecaprevir. Glecaprevir does not influence the anti-HIV-1 activity of lopinavir and darunavir.	<u>R&D/16/0569</u>