2.6.6 毒性試験の概要文

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 1
2.6.6.1 グレカプレビルのまとめ 7
2.6.6.1 ピブレンタスビルのまとめ 13
2.6.6.2 グレカプレビルの単回投与毒性試験 20
2.6.6.2 ピブレンタスビルの単回投与毒性試験 20
2.6.6.2.1 ピブレンタスビルのウサギを用いた単回静脈内投与による薬物動態試験 20
2.6.6.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験 21
2.6.6.3.1 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与による忍容性及びトキシコキネティクスデータ検討試験 21
2.6.6.3.2 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験 22
2.6.6.3.3 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 23
2.6.6.3.4 グレカプレビルの SD ラットを用いた 2 週間反復経口用量設定試験 24
2.6.6.3.5 グレカプレビルの SD ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 25
2.6.6.3.6 グレカプレビルの SD ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 26
2.6.6.3.7 グレカプレビルのイヌを用いた 2 週間反復経口投与用量設定試験 28
2.6.6.3.8 グレカプレビルのイヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 29
2.6.6.3.9 グレカプレビルのイヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 30
2.6.6.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験 31
2.6.6.3.1 ピブレンタスビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験 31
2.6.6.3.2 ピブレンタスビルのマウスを用いた 2 週間反復投与用量設定試験 32
2.6.6.3.3 ピブレンタスビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 33
2.6.6.3.4 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 34
2.6.6.3.5 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 35

2.6.6.3.6 ピブレンタスビルの SD ラットを用いた 3 週間反復混餌投与毒性試験 36
2.6.6.3.7 ピブレンタスビルの SD ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 37
2.6.6.3.8 ピブレンタスビルのイヌを用いた 2 週間反復経口投与用量設定試験 38
2.6.6.3.9 ピブレンタスビルのイヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 39
2.6.6.3.10 ピブレンタスビルのイヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 40
2.6.6.4 グレカプレビルの遺伝毒性試験 41
2.6.6.4.1 グレカプレビルの細菌を用いた復帰突然変異試験 41
2.6.6.4.2 グレカプレビルヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 41
2.6.6.4.3 グレカプレビルのラット小核試験 42
2.6.6.4 ピブレンタスビルの遺伝毒性試験 42
2.6.6.4.1 ピブレンタスビルの細菌を用いた復帰突然変異試験 42
2.6.6.4.2 ピブレンタスビルのヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 43
2.6.6.4.3 ピブレンタスビルのマウス小核試験 43
2.6.6.5 グレカプレビルのがん原性試験 44
2.6.6.5 ピブレンタスビルのがん原性試験 44
2.6.6.6 グレカプレビルの生殖発生毒性試験 44
2.6.6.6.1 グレカプレビルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 44
2.6.6.6.1.1 グレカプレビルの SD 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 44
2.6.6.6.2 グレカプレビルの胚・胎児発生に関する試験 45
2.6.6.6.2.1 グレカプレビルの SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（予備試験） 45
2.6.6.6.2.2 グレカプレビルの SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 45
2.6.6.6.2.3 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（予備試験） 46
2.6.6.6.2.4 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（予備試験 2） 47
2.6.6.6.2.5 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 48
2.6.6.6.3 グレカプレ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 48
2.6.6.6.3.1 グレカプレビルのラットを用いた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 48

2.6.6.6.4 グレカプレビルの幼若動物を用いた毒性試験 49
2.6.6.6 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験 49
2.6.6.6.1 ピブレンタスビルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 49
2.6.6.6.1.1 ピブレンタスビルのマウス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 49
2.6.6.6.2 ピブレンタスビルの胚・胎児発生に関する試験 50
2.6.6.6.2.1 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた胚・胎児発生に関する試験（予備試験） 50
2.6.6.6.2.2 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた胚・胎児発生に関する試験 51
2.6.6.6.2.3 ピブレンタスビルのウサギを用いた経口投与による母動物忍容性試験 52
2.6.6.6.2.4 ピブレンタスビルのウサギを用いた胚・胎児発生の試験 52
2.6.6.6.2.5 ピブレンタスビルの非妊娠ウサギを用いた静脈内投与による用量設定試験 54
2.6.6.6.2.6 ピブレンタスビルのウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験 55
2.6.6.6.3 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 56
2.6.6.6.3.1 ピブレンタスビルのマウスを用いた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 56
2.6.6.6.4 ピブレンタスビルの幼若動物を用いた毒性試験 57
2.6.6.7 グレカプレビルの局所刺激性試験 58
2.6.6.7 ピブレンタスビルの局所刺激性試験 58
2.6.6.8 グレカプレビルのその他の毒性試験 58
2.6.6.8.1 グレカプレビルの免疫毒性試験 58
2.6.6.8.2 グレカプレビルの不純物 58
2.6.6.8.2.1 グレカプレビルの不純物の特定及び規格設定の試験 58
2.6.6.8.2.2 グレカプレビルの製造過程工程に潜在的に含まれる不純物の復帰突然性試験 59
2.6.6.8.3 グレカプレビルのその他試験 61
2.6.6.8.3.1 グレカプレビルの光毒性試験 61
2.6.6.8.3.1.1 グレカプレビルのニュートラルレッド取り込み光毒性試験 62
2.6.6.8.3.1.2 グレカプレビルの有色ラットを用いた光毒性試験 62
2.6.6.8.3.2 グレカプレビルに用いる溶媒のウサギにおける忍容性試験 64
2.6.6.8.3.3 グレカプレビル及びピブレンタスビルのラットを用いた 4 週間反復併用投与毒性試験 65

2.6.6.8 ピブレンタスビルその他の毒性試験 65
2.6.6.8.1 ピブレンタスビルの免疫毒性試験 65
2.6.6.8.2 ピブレンタスビルの不純物 65
2.6.6.8.2.1 ピブレンタスビルの不純物の特定及び規格設定の試験 65
2.6.6.8.2.2 不純物を含むピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 4 週間投与毒性試験 69
2.6.6.8.2.3 U* の細菌を用いた復帰突然変異試験 69
2.6.6.8.2.4 ピブレンタスビルの製造過程工程に潜在的に含まれる不純物の復帰突然性試験 70
2.6.6.8.3 ピブレンタスビルのその他の試験 72
2.6.6.8.3.1 ピブレンタスビルのニュートラルレッド取り込み光毒性試験 72
2.6.6.8.3.2 ピブレンタスビルに用いる溶媒のウサギにおける忍容性試験 73
2.6.6.9 グレカプレビルの考察及び結論 74
2.6.6.9 ピブレンタスビルの考察及び結論 77
2.6.6.10 グレカプレビルの図表 80
2.6.6.10 ピブレンタスビル図表 80
2.6.6.11 グレカプレビルの参考文献 81
2.6.6.11 ピブレンタスビルの参考文献 81

表一覧

表 2.6.6-1. グレカプレビルの毒性試験一覧 10
表 2.6.6-2. ピブレンタスビルの毒性試験一覧 16
表 2.6.6-3. ピブレンタスビルの薬物動態データ（平均値：静脈内投与） 21
表 2.6.6-4. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験） 22
表 2.6.6-5. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験） 23
表 2.6.6-6. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 4 週間試験） 24
表 2.6.6-7. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 2 週間試験） 25
表 2.6.6-8. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 13 週間試験） 26
表 2.6.6-9. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 26 週間試験） 27
表 2.6.6-10. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 2 週間試験） 28

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-11. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 13 週間試験） 30
表 2.6.6-12. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 39 週間試験） 31
表 2.6.6-13. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験） 32
表 2.6.6-14. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 2 週間試験） 33
表 2.6.6-15. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 4 週間試験） 34
表 2.6.6-16. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 13 週間試験） 35
表 2.6.6-17. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 26 週間試験） 36
表 2.6.6-18. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（SD ラットの 3 週間試験） 36
表 2.6.6-19. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラットの 13 週間試験） 38
表 2.6.6-20. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：イヌの 2 週間試験） 39
表 2.6.6-21. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 13 週間試験） 40
表 2.6.6-22. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 39 週間試験） 41
表 2.6.6-23. トキシコキネティクスデータ（平均値：雄マウス，Day 35/36） 50
表 2.6.6-24. ピブレンタスビルの母動物におけるトキシコキネティクスデータ及び胎児/母動物濃度比（平均値：マウス胚・胎児発生に関する用量設定試験） 50
表 2.6.6-25. ピブレンタスビルの母動物におけるトキシコキネティクスデータ（平均値：マウス胚・胎児発生に関する試験） 51
表 2.6.6-26. ピブレンタスビルの胎児におけるトキシコキネティクスデータ（平均値：マウス胚・胎児発生に関する試験） 51
表 2.6.6-27. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの忍容性試験） 52
表 2.6.6-28. ピブレンタスビルの母動物のトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験，妊娠 7 日） 53
表 2.6.6-29. ピブレンタスビルの母動物のトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験，妊娠 19 日） 53

表 2.6.6-30. 胎児 / 母動物曝露量の比（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験） 53
表 2.6.6-31. ピブレンタスビルの妊娠 7 日及び 19 日における母動物おトキシコキネティクスデータ（平均値，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験） 56
表 2.6.6-32. ピブレンタスビルの妊娠 20 日の胎児におけるトキシコキネティクスデータ（平均値，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験） 56
表 2.6.6-33. ピブレンタスビルの母動物（F0）及び出生児（F1）における血漿中濃度（平均値：マウス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） 57
表 2.6.6-34. グレカプレビルに含まれる不純物（ R* 及び S* ）の毒性評価 59
表 2.6.6-35. グレカプレビルの不純物の評価結果 60
表 2.6.6-36. 1% DMSO/DPBS 中の グレカプレビル及び promethazine の濃度（mg/L，*in vitro* 光毒性試験） 62
表 2.6.6-37. グレカプレビルの *in vitro* 光毒性試験の結果 62
表 2.6.6-38. 光毒性試験の試験デザイン 63
表 2.6.6-39. トキシコキネティクス群の群構成 63
表 2.6.6-40. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（ウサギ忍容性試験） 64
表 2.6.6-41. ピブレンタスビルに含まれる不純物 66
表 2.6.6-42. ピブレンタスビルに含まれる K* , L* , M* , N* , O* , P* 及び Q* の規格値及び安全域 68
表 2.6.6-43. ピブレンタスビルの不純物の評価結果 71
表 2.6.6-44. 1% DMSO/DPBS 中のピブレンタスビル及び promethazine の濃度（mg/L，*in vitro* 光毒性試験） 73
表 2.6.6-45. ピブレンタスビルの *in vitro* 光毒性試験の結果 73
表 2.6.6-46. グレカプレビルの主要な毒性試験及び安全域 77
表 2.6.6-47. ピブレンタスビルの主要な毒性試験及び安全域 80

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.1 グレカプレビルのまとめ

グレカプレビルの毒性試験は，ピブレンタスビルとの併用投与による C 型肝炎ウイルス（以下「HCV」）感染患者を対象とした治療薬として臨床開発を進め，製造販売承認を取得するために必要なデータを収集することを目的に計画され実施した。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 として記載されることもある。臨床投与期間は 8 又は 12 週間であり，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全身曝露量（AUC）は，11.6 及び 30.4 μg•hr/mL と推定される（2.7.2 項）。

グレカプレビルの安全性は，ラット及びイヌの反復投与毒性試験，*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）を実施して，評価した。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。

反復投与毒性試験で用いた最高投与量が投与可能な最大用量を用いており，単回投与毒性試験を実施しても反復投与毒性試験から得られる以上の情報が得られないと考えられたことから，単回投与毒性試験を実施しなかった。

反復投与毒性試験は，SD ラット（最長 26 週間）及びビーグル犬（最長 39 週間）を用いて実施した。また，将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスの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投与期間が 8 又は 12 週間であること，遺伝毒性が陰性を示し，反復投与毒性試験においてがん原性が疑われる所見がみられていないことから，がん原性試験は実施しなかった。

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，サルと比較して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。

全身曝露量を増加する目的でラット及びイヌの反復投与毒性試験並びにラットの生殖発生毒性試験では 1 日 2 回投与を実施した。マウスの主要な試験では，1 日 2 回投与と 1 日 1 回投与を比較して，全身曝露量の増加がみられなかったことから，1 日 1 回投与とした。ウサギの胚・胎児発生に関する試験では，1 日 1 回で十分な全身曝露量（低曝露量で母体毒性がみられた）が得られたことから，1 日 1 回の投与とした。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験においては，溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を用いた。マウスでは 2 種類の溶媒，PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）と 0.1%の antifoam C を含む水溶液で懸濁した Tween 20:Poloxamer 124:Copovidone（質量比，13.3:6.7:80）の非晶質固体分散体を用いた。ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験では PEG-400:Tween 20:Poloxomer 124 を用いたが，溶媒に対する忍容性が良好ではなかったため，ウサギの胚・胎児発生に関する試験では Ethanol:PEG-400:Phosal 53 MCT（質量比，10:30:60）を用いた。

*新薬承認情報提供時に置き換え

毒性試験ではフリー体のグレカプレビルを用いた。投与量は体重換算して算出した。ラット及びイヌではそれぞれ 120 mg/kg/日及び 200 mg/kg/日で最大曝露量が得られた。ラットの 2 週間反復投与毒性試験（非 GLP）の高用量は 600 mg/kg/日に設定したが，120 mg/kg/日の全身曝露量が 600 mg/kg/日のそれを上回ったことから，その後に実施したラットの反復投与毒性試験では高用量を 120 mg/kg/日に設定した。

投与可能な最大用量における曝露量（ラットの 26 週間反復投与毒性試験では 735 μg•hr/mL，イヌの 39 週間反復投与毒性試験では 1440 μg•hr/mL）において毒性変化はみられなかった。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（≥ 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。ラットでは胆嚢の変化がみられなかった。

臨床検査における変化はイヌのみでみられた。イヌの 13 週間反復投与毒性試験の血液生化学的検査では 368 μg•hr/mL 以上で ALP の増加（2 倍から 5.5 倍），765 μg•hr/mL で ALT の増加（個体別ベースラインとの比較で 2.2 倍から 3.8 倍）がみられた。イヌの 39 週間反復投与毒性試験では ALT の増加（個体別ベースラインとの比較で 236 μg•hr/mL で 2.1 倍から 4.0 倍，1440 μg•hr/mL で 4.6 倍から 8.1 倍）がみられた。これらの血清酵素の増加はその程度が小さく，投与に関連した肝臓の病理組織学的所見がみられず，回復性を示したことから，毒性とは考えなかった。ラットの 26 週間反復投与毒性試験の無毒性量における全身曝露量は，肝硬変及び非肝硬変患者の曝露量と比較して 24 倍及び 63 倍高い値であった。イヌの 39 週間反復投与毒試験の無毒性量との比較では，それぞれ 47 倍及び 124 倍高い値だった。

グレカプレビルは *in vitro* 光毒性試験で陽性を示したが，その後実施した有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験（GLP）では陰性を示した。遺伝毒性試験及び安全性薬理試験においても安全性に懸念のある結果は得られていない。

ラット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（ラット 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験から算出された全身曝露量は 657 μg•hr/mL）において著変はみられなかった。この全身曝露量は，肝硬変及び非肝硬変患者の曝露量と比較して 47 倍及び 124 倍高い値であった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物及び胎児の無毒性量は，ともに投与可能な最大用量で得られ，その際の母動物の全身曝露量は 559 μg•hr/mL であった。この全身曝露量は，肝硬変及び非肝硬変患者の曝露量と比較して 18 倍及び 48 倍高い値であった。

ラットを用いた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は，全身曝露量が 492 μg•hr/mL において妊娠期間及び授乳期間の母動物の体重及び摂餌量には著変がみられなかった。出生児にも影響はみられなかった。その際の母動物の全身曝露量は，肝硬変及び非肝硬変患者の曝露量と比較して 16 倍及び 42 倍高い値であった。

ラット及びイヌと異なり，ウサギではグレカプレビルに対する忍容性が良好でなかった。母体毒性（摂餌量及び体重の減少）が，用量設定試験の 2.2 μg•hr/mL 以上（100 mg/kg/日以上）で，

着床後胚損失及び胎児体重の減少と関連してみられた。一方，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・胎児発生に関する試験では，用いた最高用量（60 mg/kg/日）において，母動物及び胎児に著変はみられなかった。その際の母動物の全身曝露量は 0.7 μg•hr/mL であり，肝硬変及び非肝硬変患者の曝露量と比較しても低曝露であった。ウサギでは，胚・胎児発生に関する用量設定試験で 2.2 μg•hr/mL 以上でみられた毒性変化のために，高曝露量を得ることができなかった。

幼若動物の毒性試験は，成獣動物において懸念される毒性変化がみられなかったことから，実施しなかった。成獣毒物でみられた所見は，小児患者において重篤に発現することはなく，異なった表現型としてみられることはないと考えられた。さらに，小児と成人とで代謝の差は予測されていない。

不純物及び潜在的な不純物は 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，想定される摂取量が 1 mg/日未満で警告構造を持つ製造工程由来不純物が複数挙がった。これらの不純物を GLP の復帰突然変異試験を実施したところ，いくつか変異原性を示した（2.6.6.8.2.2 項）。また，公表論文等から既存変異原性物質である製造工程由来不純物もあった。警告構造の有無に関わらず，想定摂取量が 1 mg/日を上回る不純物はみられなかった。ICH M7 ガイドラインに従い，これ以上の評価は行わなかった。変異原性又は潜在的変異原性不純物は，原薬製造の上流プロセスにおいて許容限度値によって，又は，工程条件の許容値を下げる等，製造工程の理解や分析により管理する。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（3.2.S.2.6 項，3.2.S.4.1 項，3.2.S.4.5 項，3.2.P.5.1 項，3.2.P.5.6 項）。

グレカプレビル及びピブレンタスビルのそれぞれに安全性に懸念となる変化がみられず，重複する毒性がみられなかったことから，2 剤による併用投与毒性試験を計画していなかった。しかし，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。その結果，毒性変化はみられなかった。その際のグレカプレビルの全身曝露量は，肝硬変患者と同じ又は非肝硬変患者より 2 倍高かった。

主要な毒性試験は GLP に準拠して実施した。主要でない毒性試験は非 GLP 試験として実施したが，QA 査察を受けていない等，GLP に準拠していない部分があるものの，作業の大部分は GLP と同様に実施した。

表 2.6.6-1 にグレカプレビルの毒性試験一覧と無毒性量を示す。無毒性量が得られている場合には，下線で示した。

表 2.6.6-1. グレカプレビルの毒性試験一覧

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Repeat-Dose Toxicity	Mouse (TgHras wild type)	Oral (gavage)	7 days	0, 150, 300, 600, 800	No	AbbVie	R&D/13/602 (4.2.3.2-GLE-1)
	Mouse (TgHras wild type)	Oral (gavage)	7 days	0, 100, 200, 300	No	AbbVie	R&D/13/348 (4.2.3.2-GLE-2)
	Mouse (TgHras wild type)	Oral (gavage)	4 weeks	0, 40, 125, 300	Yes	AbbVie	R&D/13/682 (4.2.3.2-GLE-3)
	Rat (Sprague-Dawley)	Oral (gavage)	2 weeks	0, 40, 120, [b] 600 [b]	No	Abbott	R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4)
	Rat (Sprague-Dawley)	Oral (gavage)	13 weeks	0, 10, 40, 120	Yes	Abbott	R&D/11/930 (4.2.3.2-GLE-5)
	Rat (Sprague-Dawley)	Oral (gavage)	26 weeks	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/14/0001 (4.2.3.2-GLE-6)
	Dog (Beagle)	Oral (capsule)	2 weeks	0, 40, 100, 200	No	Abbott	R&D/11/535 (4.2.3.2-GLE-7)
	Dog (Beagle)	Oral (capsule)	13 weeks	0, 20, 60, 200	Yes	Abbott	R&D/11/925 (4.2.3.2-GLE-8)
	Dog (Beagle)	Oral (capsule)	39 weeks	0, 20, 50, 200	Yes	[redacted]	R&D/14/0002 (4.2.3.2-GLE-9)
Genotoxicity							
Bacterial Reverse Mutation Test	S. typhimurium and E. coli	*in vitro*	NA	15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	R&D/12/270 (4.2.3.3.1-GLE-1)
Chromosome Aberration Test	Human Lymphocytes	Cell culture without S9 Cell culture with S9	4 hours, 20 hours 4 hours	150, 200, 256, 20, 40, 60 µg/mL 100, 150, 185 µg/mL	Yes	[redacted]	R&D/12/271 (4.2.3.3.1-GLE-2)
Micronucleus Test	Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	1 day	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	R&D/13/002 (4.2.3.3.2-GLE-1)

表 2.6.6-1. グレカプレビルの毒性試験一覧（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility	Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	14 days prior to pairing to GD7 (F) or study termination (M)	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/14/0683 (4.2.3.5.1-GLE-1)
Embryo-fetal Toxicity	Rat (Sprague-Dawley) Range-finding	Oral gavage	GD 6 through GD 18	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/12/943 (4.2.3.5.2-GLE-1)
	Rat (Sprague-Dawley) Definitive	Oral gavage	GD 6 through GD 18	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/13/913 (4.2.3.5.2-GLE-2)
	Rabbit (New Zealand White) Range-finding	Oral gavage	GD 7 through GD 19	0, 50, 300	Yes	[redacted]	R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3)
	Rabbit (New Zealand White) Range finding	Oral gavage	GD 7 through GD 19	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted]	R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)
	Rabbit (New Zealand White) Definitive	Oral gavage	GD 7 through GD 19	0, 20, 60	Yes	[redacted]	R&D/13/679 (4.2.3.5.2-GLE-5)
Perinatal and Postnatal Development	Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	GD 6 through LD 20 or GD 24	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/16/0239 (4.2.3.5.3-GLE-1)

表 2.6.6-1. グレカプレビルの毒性試験一覧（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
in vitro Phototoxicity	Balb/c 3T3 fibroblasts	*in vitro*	NA	0.032, 0.100, 0.316, 1.00, 3.16, 10.00, 31.65, 100 µg/mL (1.5 hours and 30 minutes treatment)	Yes	[redacted]	R&D/13/488 (4.2.3.7.7-GLE-1)
in vivo Phototoxicity	Rat Crl:LE (Long-Evans), female	Oral gavage	3 days	0, 10, 40, 600	Yes	[redacted]	R&D/13/803 (4.2.3.7.7-GLE-2)
Vehicle Tolerability	Rabbit New Zealand White	Oral gavage	Vehicle: 4 days Test item in vehicle: 1 day (Day 5 of the study)	Group 1: 50 mg/kg/day QD Group 2: 25 mg/kg/day BID	No	AbbVie	R&D/12/557 (4.2.3.7.7-GLE-3)
Other Combination Safety	Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	4 weeks	0/0, 12.5/20 [c]	Yes	AbbVie	R&D/16/0097 (4.2.3.7.7-GLE-4)

a. The total daily dose is listed – doses from some studies were divided BID. The highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) or the highest dose with no adverse findings, under the conditions of the study, is underlined. All GLP studies with the exception of R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3) identified a NOAEL.

b. For R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4), 600 mg/kg/day was the highest dose with no adverse findings and 120 mg/kg/day resulted in the highest exposure with no adverse findings.

c. R&D/16/0097 (4.2.3.7.7-GLE-4) is a combination study with pibrentasvir and the dose refers to glecaprevir/pibrentasvir dose; while this study was a safety study and therefore not intended to identify a NOAEL, no adverse effects were noted.

2.6.6.1 ピブレンタスビルのまとめ

ピブレンタスビルの毒性試験は，グレカプレビルとの併用投与による HCV 感染患者を対象とした治療薬として臨床開発を進め，製造販売承認を取得するために必要なデータを収集することを目的に計画され実施した。ピブレンタスビルは，報告書等の他の文書では ABT-530，A-1325912，A-1325912.0 として記載されることもある。

ピブレンタスビルの安全性は，マウス及びイヌの反復投与毒性試験，*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）を実施して，評価した。さらに，*in vitro* 光毒性試験を実施した。ピブレンタスビルの投与経路は，全身曝露量を増加するために静脈内投与で実施したウサギの胚・胎児発生に関する試験を除き，臨床適用投与経路に従い経口投与を用いた。また，将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，ラット及び野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスの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投与期間が 8 又は 12 週間であること，遺伝毒性が陰性を示し，反復投与毒性試験においてがん原性が疑われる所見がみられていないことから，がん原性試験は実施しなかった。

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高いマウス及びイヌを選択した。

ピブレンタスビルの投与頻度は，臨床適用投与頻度と同様に 1 回/1 日とした。

2.6.4.5.2 項に記載のとおり，ピブレンタスビルの *in vivo* における代謝は限定的であり，主要な循環物質は親化合物である（ラット~92%，イヌ~92%，ヒト 98.5%）。これらの 3 動物種でみられたすべての代謝物は主要な代謝物ではなかった。ヒトにおいて，M4（O-demethylation）が唯一の代謝物であり，血漿中の全薬物の 0.2%に相当した。

ICH M3（R2）ガイドライン Q&A にしたがい，一連の脂質ベースの溶液及び非晶質固体分散体懸濁液を用いて，高い曝露量が得られる溶媒を，マウス，ラット，ウサギ及びイヌにおいて検討した。その結果，マウス，ラット，ウサギ及びイヌの試験において，Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40（質量比，40:20:20:20）を溶媒に用いた。

毒性試験ではフリー体のピブレンタスビル（A-1325912，A-1325912.0）を用いた。投与量は体重換算して算出した。

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），イヌの最長 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 2.6.6-47 に示す。その際の 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。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。

マウス及びウサギの胚・胎児発生に関する試験の最高用量は，ともに 100 mg/kg/日であり，いずれも投与可能な最大用量であった。ウサギの曝露量を増加するため静脈内投与を検討したが，溶媒の忍容性が悪かった。ウサギにピブレンタスビルを投与した際の全身曝露量（2 μg•hr/mL）は，マウス（73 μg•hr/mL）よりも低かった。いずれの動物種においても胚・胎児発生に関する試験では，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）と同じかそれ以上の曝露量において著変はみられなかった。

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著変はみられなかった。受胎能及び初期胚発生に関する無毒性量は 100 mg/kg/日であった。その際の曝露量は，雄で C_{max} は 6.95 μg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 153.0 μg•hr/mL であった（本試験では雌の TK 測定は実施していない）。雌マウスにおける 100 mg/kg のピブレンタスビルを投与した際の曝露量は，13 週間試験と 26 週間試験で同様であり，141 μg•hr/mL であった。

マウスを用いた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は，3，10 及び 100 mg/kg/日において妊娠期間及び授乳期間の母動物の体重及び摂餌量には著変がみられなかった。母動物及び胎児の無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日であった。出生児にも影響はみられなかった。したがって，出生児の無毒性量も 100 mg/kg/日であった。その際の出生後 14 日の母動物の全身曝露量は，107 μg•hr/mL であった。

幼若動物の毒性試験は，成獣動物において懸念される毒性変化がみられなかったことから，実施しなかった。成獣毒物でみられた所見は，小児患者において重篤に発現することはなく，異なった表現型としてみられることはないと考えられた。さらに，小児と成人とで代謝の差は予測されていない。

グレカプレビル及びピブレンタスビルのそれぞれには安全性に懸念となる変化及び重複する毒性がみられず，薬物代謝相互作用も考えられなかったことから，2 剤による併用投与毒性試験を計画していなかった。しかし，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。その結果，毒性変化はみられなかった。その際の全身曝露量は，雌雄で 1.19 及び 2.97 μg•hr/mL であった。

ピブレンタスビルは *in vivo* 光毒性試験（GLP）では陰性を示した。遺伝毒性試験及び安全性薬理試験においても安全性に懸念のある結果は得られていない。

最長 26 週までのマウス及び最長 39 週間までのイヌの反復投与毒性試験においてピブレンタス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，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。

実施した反復投与毒性試験及び不純物を添加した反復投与毒性試験の結果，ピブレンタスビルの非遺伝毒性不純物及び分解物は安全性が確保されたと考えられる。

主要な毒性試験は GLP に準拠して実施した。主要ではない毒性試験は非 GLP 試験として実施したが，QA 査察を受けていない等，GLP に準拠していない部分もあるものの，作業の大部分は GLP と同様に実施した。

表 2.6.6-2 にピブレンタスビルの毒性試験一覧と無毒性量を示す。無毒性量が得られている場合には，下線で示した。

表 2.6.6-2. ピブレンタスビルの毒性試験一覧

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Single-Dose Toxicity	Rabbit New Zealand White	Intravenous infusion (15 minutes)	1 day	5, 50	No	AbbVie	R&D/13/029 (4.2.3.1-PIB-1)
Repeat-Dose Toxicity	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates)	Oral gavage	7 days	0, 30, 100, 300	No	AbbVie	R&D/13/432 (4.2.3.2-PIB-1)
	Mouse, CD-1	Oral gavage	14-15 days	0, 10, 30, 300	No	Abbott	R&D/11/840 (4.2.3.2-PIB-2)
	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates	Oral Gavage	28 or 29 days	0, 3, 10, 100	Yes	AbbVie	R&D/13/666 (4.2.3.2-PIB-3)
	Mouse, CD-1 crl: [CD® (SD)]	Oral gavage	91-92 days	0, 3, 10, 100	Yes	Abbott	R&D/12/138 (4.2.3.2-PIB-4)
	Mouse Crl:CD1® (ICR)	Oral gavage	182 days	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/13/434 (4.2.3.2-PIB-5)
	Rat Sprague-Dawley	Dietary	21 days	0, 30, 100	No	AbbVie	R&D/13/340 (4.2.3.2-PIB-6)
	Rat Sprague-Dawley	Oral gavage	91 to 92 days	0, 3, 10, 30	Yes	AbbVie	R&D/13/600 (4.2.3.2-PIB-7)

表 2.6.6-2. ピブレンタスビルの毒性試験一覧（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Repeat-Dose Toxicity (Cont.)	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	14 days	0, 10, 30, 300	No	Abbott	R&D/11/928 (4.2.3.2-PIB-8)
	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	13 weeks	0, 3, 10, 100	Yes	Abbott	R&D/12/345 (4.2.3.2-PIB-9)
	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	280-282 days	0, 3, 10, 100	Yes	AbbVie	R&D/13/172 (4.2.3.2-PIB-10)
Genotoxicity	S. typhimurium and E. coli	*in vitro*	NA	25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	R&D/12/269 (4.2.3.3.1-PIB-1)
	Human peripheral blood lymphocytes (HPBL)	*in vitro*	NA	7.81, 125, 250 µg/mL Continuous treatment for 22-h without S9; 15.6, 125, 250 µg/mL, pulse treatment for 3-h with and without S9. All cultures harvested at 22-h	Yes	[redacted]	R&D/12/265 (4.2.3.3.1-PIB-2)
Micronucleus	Mouse, CD®-1	*in vivo*	1 day	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	R&D/13/014 (4.2.3.3.2-PIB-1)
Carcinogenicity	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.6-2. ピブレンタスビルの毒性試験一覧（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility	Mouse Crl:CD1 (ICR)	Oral gavage	M: 14 days prior to mating through euthanasia F: 14 days prior to mating through GD 6 [b]	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/14/0682 (4.2.3.5.1-PIB-1)
Embryo-fetal toxicity DRF (Dose range-finding)	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD 6 through GD 15	0, 3, 10, 100 [c]	Yes	[redacted]	R&D/13/253 (4.2.3.5.2-PIB-1)
Embryo-fetal toxicity	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD 6 through GD 15	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/13/950 (4.2.3.5.2-PIB-2)
Embryo-fetal toxicity DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Oral Gavage	GD 7 through GD 19	0, 10, 100	No	[redacted]	R&D/13/958 (4.2.3.5.2-PIB-3)
Embryo-fetal toxicity	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Oral gavage	GD 7 through GD 19 for Main Study and GD 7 through GD 20 for TK	0, 10, 100 [d]	Yes	[redacted]	R&D/13/638 (4.2.3.5.2-PIB-4)
DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF) (non-pregnant)	Intravenous infusion (15 minutes)	10 days	0, 2.5, 5, 10	No	[redacted]	R&D/13/248 (4.2.3.5.2-PIB-5)
Embryo-fetal toxicity DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Intravenous infusion (15 minutes)	GD 7 through GD 19 for Main Study and GD 7 through GD 20 for TK	0, 2, 5, 10 [e]	No	[redacted]	R&D/13/321 (4.2.3.5.2-PIB-6)
Peri/post-natal developmental toxicity	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD6-LD20	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/15/0822 (4.2.3.5.3-PIB-1)

表 2.6.6-2. ピブレンタスビルの毒性試験一覧（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Local Tolerance	-	-	-	-	-	-	-
Other Toxicity Studies							
Impurities							
Q* (amine degradation product)	Mouse Crl:CD-1(CD(SD))	Oral gavage	28-29 days	0, 100 [f]	Yes	AbbVie	R&D/16/0640 (4.2.3.7.6-PIB-1)
Ames assay U* (isocyanate degradation product)	S. typhimurium and E. coli	*in vitro*	NA	0, 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate, +/- S9	Yes	[redacted]	R&D/14/0229 (4.2.3.7.6-PIB-2)
Other							
Phototoxicity	Mouse Fibroblasts	*in vitro*	NA	0.00095, 0.0030, 0.0095, 0.030, 0.095, 0.30, 0.95, 3 µg/mL	Yes	[redacted]	R&D/13/656 (4.2.3.7.7-PIB-1)
Vehicle – repeat intravenous dose tolerability	Rabbit New Zealand White	Intravenous Infusion (PEG-300, D5W, and Tween80)	10 Consecutive Days	NA	No	AbbVie	R&D/13/309 (4.2.3.7.7-PIB-2)

a. For Repeat-Dose Toxicity, the highest No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) is underlined. Some non-GLP and GLP range-finding studies were not designed to determine the NOAEL.

b. Male mice were dosed for 34 to 36 doses prior to cohabitation, through cohabitation, and continuing through one day prior to scheduled euthanasia. Female mice were dosed for 22 to 30 doses prior to cohabitation, through cohabitation, and continuing through Gestation Day 6.

c. An NOAEL was not determined in this study. There was no apparent pibrentasvir-related maternal or embryo-fetal toxicity up to the highest dose tested (100 mg/kg/day).

d. 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.

e. Due to early study termination (GD 23, 24) and resultant early gestational age, the limited fetal examinations were not considered to be a valid assessment of embryo-fetal development.

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

NA = not applicable; - = study not conducted

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.2 グレカプレビルの単回投与毒性試験

概略の致死量を考察するため，マウス，ラット及びイヌを用いて実施した毒性試験（GLP）のうち，最も高い用量を用いた毒性試験（TgHras マウスの 4 反復投与毒性試験，4.2.3.2-GLE-3；ラットの小核試験，4.2.3.3.2-GLE-1；イヌの 13 週間反復投与毒性試験，4.2.3.2-GLE-8）の初回投与後における動物の死亡の有無を検討した。

これらの試験において，最高用量はマウス，ラット及びイヌで，それぞれ 300 mg/kg，2000 mg/kg 及び 200 mg/kg であり，ラットで対照群を含み一過性の下痢，イヌで嘔吐及び便性異常が散見されましたが，いずれも死亡例はみられなかった。

以上，マウス，ラット及びイヌの毒性試験のうち，それぞれの動物種で最も高い用量を用いた毒性試験に基づき，概略の致死量は，マウス，ラット及びイヌで，それぞれ，300 mg/kg，2000 mg/kg 及び 200 mg/kg を上回る量と考えられた。

2.6.6.2 ピブレンタスビルの単回投与毒性試験

概略の致死量を考察するため，マウス，ラット及びイヌを用いて実施した毒性試験（GLP）のうち，最も高い用量を用いた毒性試験（マウスの小核試験，4.2.3.3.2-PIB-1；ラットの 13 週間反復投与毒性試験，4.2.3.2-PIB-7；イヌの 13 週間反復投与毒性試験；4.2.3.2-PIB-9）の初回投与後における動物の死亡の有無を検討した。

これらの試験において，最高用量はマウス，ラット及びイヌで，それぞれ 2000 mg/kg，30 mg/kg 及び 100 mg/kg であり，いずれも死亡例はみられず，一般状態に著変はみられなかったた。

以上，マウス，ラット及びイヌの毒性試験のうち，それぞれの動物種で最も高い用量を用いた毒性試験に基づき，概略の致死量は，マウス，ラット及びイヌで，それぞれ，2000 mg/kg，30 mg/kg 及び 100 mg/kg を上回る量と考えられた。

2.6.6.2.1 ピブレンタスビルのウサギを用いた単回静脈内投与による薬物動態試験

（R&D/13/029［4.2.3.1-PIB-1 項］，参考資料，非 GLP 試験）

ピブレンタスビルの 5 及び 50 mg/kg を雌のウサギ（2 例 / 群）に 15 分間かけて単回静脈内投与し，ピブレンタスビルの全身曝露量を検討した。溶媒には PEG-300: D5W: Tween 80（質量比，89.5:10:0.5）を用いた。

50 mg/kg の 2 例は投与中（投与後 6 分）に死亡した。別の試験においてピブレンタスビルの 10 mg/kg では 15 分間の静脈内投与において忍容性は良好であり，その際の推定 C_{max} は 38 μg/mL であった。この濃度はピブレンタスビルの溶解限度とほぼ同様の濃度であった。50 mg/kg では，溶解限度値の 40 μg/mL を上回った可能性が考えられ，その結果が，死亡につながったものと考えられる。本死亡例から血液採取はしかなった。剖検所見において，著変はみられなかった。5 mg/kg の忍容性は良好であり，血液サンプルを採取した。

表 2.6.6-3 にピブレンタスビルの薬物動態データを示す。

表 2.6.6-3. ピブレンタスビルの薬物動態データ（平均値：静脈内投与）

Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day)	
5	50
Mean Plasma AUC[a] (μg•hr/mL)	
12.5	NS[b]
Mean Plasma $C_{0.25h}$ (μg/mL)	
5.9	NS[b]

a. AUC calculated as $AUC_{0-\infty}$

b. NS = no samples collected

5 mg/kg では静脈内投与後の血漿中ピブレンタスビル濃度は 5.9 μg/mL（4.4–7.3 μg/mL，$C_{0.25h}$）であり，消失半減期は 7.4 時間，$AUC_{0-\infty}$の平均値は 12.5 μg•hr/mL（11.0–14.0 μg•hr/mL）であった。

以上，50 mg/kg のピブレンタスビルをウサギに単回静脈内投与した結果，死亡例がみられ，血漿中濃度がピブレンタスビルの溶解限度値を上回ったことが推測された。概略の致死量は 50 mg/kg と考えられた。5 mg/kg では忍容性は良好であり，$C_{0.25h}$ は 5.9 μg/mL，$AUC_{0-\infty}$は 12.5 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与による忍容性及びトキシコキネティクスデータ検討試験

（R&D/13/602［4.2.3.2-GLE-1 項］，参考資料，非 GLP 試験）

野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスにグレカプレビルを 150 mg/kg/日（1 日 1 回又は 1 日 2 回投与），300 mg/kg/日（1 日 1 回又は 1 日 2 回投与），600 mg/kg/日（1 日 2 回投与）及び 800 mg/kg/日（1 日 2 回投与）の用量（3 例 / 性 / 群）で 1 週間経口投与した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。1 日 2 回投与の場合は，1 回目投与後約 12 時間後に 2 回目の投与を行った。

検査項目は，トキシコキネティクス（Day 1 及び Day 7 に血液サンプルを採取），一般状態，体重及び摂餌量とした。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，その他の検査項目においても，著変はみられなかった。

グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験）

Dose					
(mg/kg/day)	QD or Div. BID	Day	M/F	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•hr/mL)
150	Div BID	7	M/F	41.0 (5.5)	195 (30)
			M	32.8 (5.7)	168 (27)
			F	49.1 (7.4)	222 (54)
150	QD	7	M/F	95.4 (18.4)	327 (48)
			M	82.2 (18.7)	258 (23)
			F	108.5 (34.2)	395 (81)
300	Div BID	7	M/F	66.1 (24.4)	308 (84)
			M	49.0 (24.0)	242 (74)
			F	83.1 (46.0)	373 (161)
300	QD	7	M/F	94.1 (18.2)	353 (56)
			M	65.7 (11.7)	271 (37)
			F	123 (26.7)	435 (86)
600	Div BID	1	M/F	187 (14.1)	1392 (109)
			M	179 (25.8)	1194 (82)
			F	196 (15.7)	1590 (118)
600	Div BID	7	M/F	88.3 (25.6)	470 (138)
			M	48.5 (17.2)	299 (109)
			F	128 (37.5)	641 (234)
800	Div BID	1	M/F	131 (23.2)	803 (103)
			M	134 (20.3)	872 (144)
			F	129 (47.8)	735 (166)
800	Div BID	7	M/F	59.9 (22.6)	273 (92)
			M	21.9 (11.5)	110 (35)
			F	97.9 (31.2)	436 (122)

Data presented as Mean (Standard Error of the Mean), M : male, F: female

以上，グレカプレビルの 1 日 1 回投与及び 1 日 2 回投与は同様の曝露を示した。Day 7 の 150 mg/kg（1 日 1 回投与），300 mg/kg（1 日 1 回投与），300 mg/kg（1 日 2 回投与），600 mg/kg（1 日 2 回投与）及び 800 mg/kg（1 日 2 回投与）は同様の値を示した。投与期間を通して，グレカプレビルに起因する毒性変化はみられなかった。Day 1 と Day 7 のデータを採取した 600 mg/kg 及び 800 mg/kg では Day 1 よりも Day 7 の曝露量が低かった。

2.6.6.3.2 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験

（R&D/13/348［4.2.3.2-GLE-2 項］，参考資料，非 GLP 試験）

野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスにグレカプレビルを 100，200 及び 300 mg/kg/日の用量（5 例 / 性 / 群）で 1 週間経口投与した。対照群には溶媒 Tween 20:Poloxamer 124:Copovidone（質量比，13.3:6.7:80）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査及び剖検とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（9 例 / 性 / 群）を設定し，Day 1 及び Day 7 に採取した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，その他の検査項目においても，毒性変化はみられなかった。グレカプレビルに起因した変化ではあるが，毒性とは考えられなかった変化が，複数みられた。雌のグレカプレビル投与群では赤血球系パラメータの軽微な減少が，雄の 200 及び 300 mg/kg/日では骨髄の再生反応を伴った軽微な血液学的変化（赤血球分布幅の増加）がみられた。これらの血液学的変化は，その変化の程度が小さく，生物学的意義のある変化とは考えられなかった。雄の 200 及び 300 mg/kg/日と雌の 300 mg/kg/日でみられたコレステロールの軽度の増加は，グレカプレビルに関連した変化と考えられたが，毒性とは判断しなかった。

その他，一般状態，体重，摂餌量及び剖検において，グレカプレビルに起因した変化はみられなかった。

グレカプレビルの全身曝露量は雄よりも雌の方が高い傾向がみられた。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-5. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験）

Collection Interval	Sex	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
		100	200	300
		Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)		
Day 7	Male	54.7	145	262
	Female	136	355	451
	Overall	95.5	250	357
		Mean Plasma C_{max} (µg/mL)		
Day 7	Male	25.7	40.4	86.4
	Female	52.6	106.3	109.4
	Overall	39.1	73.4	97.9

以上，グレカプレビルの 300 mg/kg/日までを野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスに経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。300 mg/kg/日の Day 7 における雌雄の C_{max} はそれぞれ 109.4 及び 86.4 µg/mL であり，$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 451 及び 262 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.3 グレカプレビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

（R&D/13/682［4.2.3.2-GLE-3 項］，評価資料，GLP 試験）

野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウス（10 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 40，125 及び 300 mg/kg/日の用量で 4 週間経口投与した。投与量は先立って実施した忍容性及びトキシコキネ

ティクス試験（R&D/13/602、4.2.3.2-GLE-1 項）に基づき，設定した。また，1 日 2 回投与と 1 日 1 回投与による全身曝露量が同様であったことから，1 日 1 回投与にて，本試験を実施した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（グレカプレビル，10 例 / 性 / 群；対照群，4 例 / 性 / 群）を設定し，Day 28 に採取した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，その他の検査項目においても，毒性変化はみられなかった。グレカプレビルに起因した変化ではあるが，毒性とは考えられなかった変化として，雄の 125 mg/kg/日以上と雌の 300 mg/kg/日でコレステロール及びアルカリフォスファターゼの軽微な増加がみられた。さらに，雄のグレカプレビル投与群と雌の 125 mg/kg/日以上で総ビリルビンの軽微な増加がみられた。雌の 300 mg/kg/日では肝臓相対重量の平均値の増加がみられた。これらの軽微な変化はその変化の程度が小さく，病理組織学的変化を伴っていないことから，毒性とは考えなかった。

グレカプレビルの全身曝露量は雌雄で同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 4 週間試験）

Collection Interval	Sex	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
		40	125	300
		Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)		
Day 28	Overall	39.2	399	737
		Mean Plasma C_{max} (µg/mL)		
Day 28	Overall	13.8	99.8	158

以上，グレカプレビルを 300 mg/kg/日までを野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスに 4 週間反復経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられ，その際の C_{max} の平均値は 158 µg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は 737 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.4 グレカプレビルの SD ラットを用いた 2 週間反復経口用量設定試験

（R&D/11/575［4.2.3.2-GLE-4 項］，参考資料，非 GLP 試験）

雌雄の SD ラット（5 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 20，60 及び 300 mg/kg/回を 6 時間間隔で 1 日 2 回，2 週間経口投与した（すなわち，40，120 及び 600 mg/kg/日の用量）。1 日 2 回投与は，全身曝露量を増加させる目的で用いた。対照群には溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（5 例 / 性 / 群）を設定し，Day 1 及び Day 14 に採取した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，その他の一般状態，体重，摂餌量，臨床検査，剖検，病理組織学的検査において，グレカプレビルに起因した毒性変化はみられなかった。

600 mg/kg/日において，胃に好中球の細胞浸潤（軽微から軽度）及び潰瘍（軽微）がみられた。この変化は程度が軽微から軽度であり，同様の変化が同様以上の曝露量がえられた 120 mg/kg/日ではみられなかったことから，全身曝露量によるというよりもむしろ局所刺激による 2 次的変化であると考えられた（120 及び 600 mg/kg/日の AUC はそれぞれ 739 及び 543 μg•hr/mL，C_{max} は 93.7 及び 90.7 μg/mL であった）。

グレカプレビルの全身曝露量は雌雄で同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-7 に示す。Day 1 と比較して，Day 14 の AUC_{0-24h} 及び C_{max} は低い値を示し，特に高用量では減少の程度が著しかった。

表 2.6.6-7.　グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 2 週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	40	120	600
	Mean Plasma AUC_{0-24h} (μg•hr/mL)		
Day 1	330	1380	1925
Day 14	276	739	543
	Mean Plasma C_{max}^1 (μg/mL)		
Day 1	32.0	114.1	152.1
Day 14	21.2	93.7	90.7
	Mean Plasma C_{max}^2 (μg/mL)		
Day 1	31.5	106.0	167.2
Day 14	33.2	79.2	53.0

C_{max}^1 refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}^2 refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，グレカプレビルの 600 mg/kg/日までのラットを用いた 2 週間経口投与では，投与量としては 600 mg/kg/日まで，全身曝露量としては 120 mg/kg/日まで，グレカプレビルに関連した毒性変化はみられなかった。120 mg/kg/日が投与可能な最大用量と考えられた。

2.6.6.3.5　グレカプレビルの SD ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（R&D/11/930［4.2.3.2-GLE-5 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄の SD ラット（10 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 5，20 及び 60 mg/kg/回，6 時間間隔で 1 日 2 回，13 週間経口投与した（すなわち，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量）。投与量は先

立って実施した用量設定試験（R&D/11/575, 4.2.3.2-GLE-4 項）に基づき，設定した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定はスパースサンプリングにより Day 1 及び Day 91 に採取した。回復性試験用に各 5 例 / 性 / 群を設け，4 週間休薬した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，設定した検査項目においてグレカプレビルに起因した毒性変化はみられなかった。

グレカプレビルの全身曝露量は雌雄で同様でり，Day 1 及び Day 91 の全身曝露量も同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 13 週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	10	40	120
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•hr/mL)		
Day 1	37.5	301	597
Day 91	45.8	253	580
	Mean Plasma C_{max}[1] (μg/mL)		
Day 1	4.22	23.6	52.4
Day 91	5.93	30.6	68.2
	Mean Plasma C_{max}[2] (μg/mL)		
Day 1	4.98	28.2	65.6
Day 91	5.74	30.3	61.0

C_{max}[1] refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}[2] refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，グレカプレビルの 120 mg/kg/日までをラットに 13 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 120 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 91 の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は 580 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3.6 グレカプレビルの SD ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（R&D/14/0001［4.2.3.2-GLE-6 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄の SD ラット（20 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 5，20 及び 60 mg/kg/回を 6 時間間隔で 1 日 2 回，26 週間経口投与した（すなわち，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量）。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/11/575, 4.2.3.2-GLE-4 項）に基づき，設定した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス

測定はスパースサンプリングにより Day 1 及び Day 181 に採取した。回復性試験用として対照群及び 120 mg/kg/日に各 7 例 / 性 /群を設け，4 週間休薬した。

試験期間を通して 8 例の死亡例がみられた。いずれの死亡例もグレカプレビルに起因するものではなかった。4 例（対照群 1 例，10 mg/kg/日群 1 例，120 mg/kg/日群 2 例）は気道（喉頭，気管支又は気管）に物理的な傷害を示す又は異常呼吸を示す病理組織学的所見がみられた。1 例（40 mg/kg/日群）では，死因は特定されていないが，程度の弱い同様の所見がみられた。また，別の 1 例（120 mg/kg/日群）では剖検及び病理組織学的検査で，肝臓の血管裂傷がみられ，腹腔内に出血がみられた。肝臓の血管裂傷は投与ミスの 2 次的変化と考えられた。他の 2 例（対照群）は死後融解のため，死因は特定できなかったが，対照群での発現であり，投与に関連した傷害又は投与ミスの記録があることから，グレカプレビルとは関連していないと考えられた。

設定した検査項目においてグレカプレビルに起因した毒性変化はみられなかった。グレカプレビルに起因した変化ではあるが，毒性とは考えられなかった変化として，雄の 40 及び 120 mg/kg/日においてカリウムの軽度な減少（–15%及び–16%）がみられた。また，雄の 120 mg/kg/日においてリンの軽微な減少（–10%）がみられた。休薬期間後において雄の 120 mg/kg/日でカリウム及びリンの軽度の減少（–21%及び–17%）がみられた。これらの変化はその変化の程度が小さいことから，毒性とは考えられなかった。

グレカプレビルの全身曝露量は雌雄で同様でり，Day 1 及び Day 181 の全身曝露量も同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラット 26 週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	10	40	120
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)		
Day 1	27.3	220	983
Day 181	37.9	274	735
	Mean Plasma C_{max}[1] (µg/mL)		
Day 1	2.54	14.4	70.8
Day 181	4.73	26.3	99.8
	Mean Plasma C_{max}[2] (µg/mL)		
Day 1	4.46	36.7	130
Day 181	5.25	42.7	99.2

C_{max}[1] refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}[2] refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，グレカプレビルの 120 mg/kg/日までをラットに 26 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 120 mg/kg/日と考えられた。その際の全身曝露量（$AUC_{0\text{–}24h}$）は 735 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.7 グレカプレビルのイヌを用いた2週間反復経口投与用量設定試験

（R&D/11/535［4.2.3.2-GLE-7項］，参考資料，非GLP試験）

雌雄のビーグル犬（2例 / 性 / 群）にグレカプレビルを20，50及び100 mg/kg/回，6時間間隔で1日2回，2週間経口投与した（すなわち，40，100及び200 mg/kg/日の用量）。対照群には溶媒PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取はDay 1及びDay 14に採取した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられず，体重，摂餌量，尿検査，血液学的変化，血液凝固検査，剖検及び器官重量にはグレカプレビルに起因した変化はみられなかった。

グレカプレビルに起因した変化ではあるが，毒性とは考えられなかった変化として，200 mg/kg/日の雌雄でみられた便性異常（粘液便，水様便，緑色便），100 mg/kg/日（雌雄でそれぞれ–45%及び–23%）及び200 mg/kg/日（雌雄でそれぞれ–49%及び–34%）でみられたコレステロールの軽度な減少，雄の200 mg/kg/日の胆嚢でみられた軽度な瀰漫性の粘膜浮腫がみられた。これらの変化は，発現頻度が散発的であるか，その変化の程度が弱く，並びに胆嚢の変化では炎症反応がみられていないことから，毒性とは考えられなかった。

グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表2.6.6-10に示す。

表2.6.6-10. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの2週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	40	100	200
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•hr/mL)		
Day 1	102	787	1629
Day 14	99.2	841	961
	Mean Plasma C_{max} [1] (μg/mL)		
Day 1	27.9	56.6	104
Day 14	31.5	84.2	65.6
	Mean Plasma C_{max} [2] (μg/mL)		
Day 1	13.7	80.5	147
Day 14	10.0	78.8	96.0

C_{max}[1] refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}[2] refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，グレカプレビルの200 mg/kg/日までをイヌに2週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。200 mg/kg/日の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は961 μg•hr/mLであった。100 mg/kg/日と200 mg/kg/日の定常状態の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）が同様であったことから，200 mg/kg/日は投与可能な最大用量と考えられた。

2.6.6.3.8 グレカプレビルのイヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（R&D/11/925［4.2.3.2-GLE-8 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄のビーグル犬（4 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 10，30 及び 100 mg/kg/回，6 時間間隔で 1 日 2 回，13 週間経口投与した（すなわち，20，60 及び 200 mg/kg/日の用量）。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/11/535, 4.2.3.2-GLE-7 項）に基づき，設定した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取は Day 1 及び Day 91 に採取した。回復性試験用に対照群，60 及び 200 mg/kg/日に各 2 例 / 性 /群を設け，4 週間休薬した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられなかった。グレカプレビルに起因した変化ではあるが，毒性とは考えられなかった変化として，60 及び 200 mg/kg/日において高頻度で便性異常（粘液便，水様便，緑色便）がみられた。さらに，20 mg/kg/日の雄 1 例，60 mg/kg/日の雄 1 例及び雌 2 例，及び 200 mg/kg/日の雌 1 例では胆嚢において軽微な粘膜浮腫がみられた。これらの変化は，発現頻度が散発的である，又はその変化の程度が弱く，並びに胆嚢の変化では炎症反応がみられていないことから，毒性とは考えられなかった。これらの変化は休薬期間後にはみられなくなった。

体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，血液学的変化，血液凝固検査，剖検及び器官重量にはグレカプレビルに起因した変化はみられなかった。グレカプレビルに起因した可能性のある変化として，60 mg/kg/日以上（368 µg•hr/mL）でみられた ALP の増加（ベースライン値と比較して 2–5.5 倍）及び 200 mg/kg/日でみられた ALT の増加（ベースライン値と比較して 2.2–3.8 倍）がみられた。

グレカプレビルの全身曝露量は雌雄で同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 13 週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	20	60	200
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•hr/mL)		
Day 1	23.5	441	1180
Day 91	16.1	368	765
	Mean Plasma C_{max} 1 (μg/mL)		
Day 1	8.05	62.0	87.4
Day 91	4.34	60.6	83.9
	Mean Plasma C_{max} 2 (μg/mL)		
Day 1	1.97	42.9	92.0
Day 91	1.73	40.5	66.5

C_{max}^1 refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}^2 refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，200 mg/kg/日までのグレカプレビルをイヌに 13 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 91 の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は 765 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3.9 グレカプレビルのイヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

（R&D/14/0002［4.2.3.2-GLE-9 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄のビーグル犬（4 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 10，25 及び 100 mg/kg/回を 6 時間間隔で 1 日 2 回，39 週間経口投与した（すなわち，20，50 及び 200 mg/kg/日の用量）。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/11/535, 4.2.3.2-GLE-7 項）に基づき，設定した。対照群には溶媒 PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取は Day 1 及び Day 273 に採取した。回復性試験用として対照群及び 200 mg/kg/日に各 2 例 / 性 /群を設け，8 週間休薬した。

本試験においてグレカプレビルに起因した死亡例はみられなかった。

グレカプレビルに起因した毒性変化はみられなかった。ベースライン値と比較して，数例に ALT 及び GGT の増加がみられた。ALT の増加は 50 mg/kg/日（236 μg•hr/mL）ではベースラインの 2.1–4.0 倍，200 mg/kg/日（1440 μg•hr/mL）では 4.6–8.1 倍であった。GGT の増加は 200 mg/kg/日（1440 μg•hr/mL）で 2.5–4.6 倍であった。これらの血清酵素の変化は雌でのみみられたが，全身曝露量の平均値に性差はみられなかった。変化の程度が小さく，関連した病理組織学的所見がみられず，回復性がみられたことから，これらの血清酵素の変化は毒性と考えられなかった。その他の検査項目でグレカプレビルに起因する変化はみられなかった。

グレカプレビル の全身曝露量は雌雄で同様であった。グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-12. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 39 週間試験）

Collection Interval	glecaprevir Dosage (mg/kg/day)		
	20	50	200
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)		
Day 1	20.9	113	1310
Day 273	50.5	236	1440
	Mean Plasma C_{max} 1 (µg/mL)		
Day 1	5.78	17.9	49.1
Day 273	12.7	57.7	117
	Mean Plasma C_{max} 2 (µg/mL)		
Day 1	1.6	23.5	136
Day 273	5.18	24.9	119

C_{max}^1 refers to the C_{max} after the first daily dose; C_{max}^2 refers to the C_{max} after the second daily dose

以上，200 mg/kg/日までのグレカプレビルをイヌに 39 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 273 の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は 1440 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験

ピブレンタスビルの CD-1 マウス，野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウス及びビーグル犬並びに SD ラットの 13 週間反復投与毒性試験では，溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を用いた。

被験物質は 1 日 1 回，げっ歯類では投与容量を 2 mL/kg とし強制経口投与，イヌでは 1 mL/kg でカプセルに充填して経口投与した。

2.6.6.3.1 ピブレンタスビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験

（R&D/13/432［4.2.3.2-PIB-1 項］，参考資料，非 GLP 試験）

野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスにピブレンタスビルを 0，30，100 及び 300 mg/kg/日の用量（5 例 / 性 / 群）で 1 週間経口投与した。検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査，剖検，器官重量と病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（ピブレンタスビル群，11 例 / 性 / 群；対照群，3 例 / 性）を設定し，各群 3 例 / 性から Day 7 にサンプルを採取した。

本試験においてピブレンタスビルに起因した死亡例はみられなかった。一般状態，体重，摂餌量，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査ではピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。ピブレンタスビルに起因した可能性のある血液学的変化として，雄の全群及び雌の 300 mg/kg/日で網状赤血球数の軽微から軽度の減少（–15%から–28%）がみられた。しかし，対照群の 1 例の網状赤血球数が異常な高値を示し，対照群の平均値が高値になったため，雌雄の 300 mg/kg/日では対照群と比較して，統計学的有意差がみられたと考えられた。したがって，これらの減少は毒性とは考えられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-13. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 7 日間試験）

Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day) [a]		
30	100	300
Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)		
115	145	132
Mean Plasma C_{max} (µg/mL)		
6.15	8.19	6.93

a. Standard deviations were not computed due to the use of composite data

ピブレンタスビルの 300 mg/kg/日までの 1 週間反復経口投与では，野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスでは忍容性が良好であった。毒性変化はみられなかった。100 mg/kg/日の Day 7 における C_{max} の平均値は 8.19 µg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は 145 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.2 ピブレンタスビルのマウスを用いた 2 週間反復投与用量設定試験

（R&D/11/840［4.2.3.2-PIB-2 項］，参考資料，非 GLP 試験）

雌雄の CD-1 マウス（5 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，10，30 及び 300 mg/kg/回を 1 日 1 回で 2 週間経口投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，臨床検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群を設定し，Day 1 及び Day 14 に採取した。

死亡例が，対照群 2 例，30 mg/kg/日の TK 群で 3 例，300 mg/kg/日の 1 例と TK 群 2 例でみられた。これらすべての死亡例は，30 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日それぞれの 1 例を除き，投与手技による外傷に起因した。これら 2 例の死因は特定されなかったが，同群の剖検及び病理組織学的検査で著しく重篤な変化がみられていないことから，ピブレンタスビルに起因した変化でないと考えられた。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-14. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 2 週間試験）

Collection Interval	Sex	Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day) 10	30	300
		Mean Plasma Pibrentasvir AUC_{0-24h} (µg•hr/mL) ± SEM		
Day 1	Overall	68.9 ± 6.8	137.3 ± 8.9	148.6 ± 5.9
Day 14	Overall	96.8 ± 4.8	160.8 ± 4.6	197.5 ± 6.7
		Mean Plasma Pibrentasvir C_{max} (µg/mL) ± SEM		
Day 1	Overall	4.64 ± 0.59	9.04 ± 0.86	7.79 ± 0.17
Day 14	Overall	5.56 ± 0.28	8.32 ± 0.26	10.16 ± 0.48

Mean: combined male and female values. SEM: standard error of the mean.

一般状態，体重，摂餌量，その他の検査項目に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。

以上，ピブレンタスビルの 300 mg/kg/日までの CD-1 マウスを用いた 2 週間経口投与では，ピブレンタスビルに関連した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 14 における AUC_{0-24h} の平均値は 197.5 µg•hr/mL，C_{max} は 10.16 µg/mL であった。

2.6.6.3.3 ピブレンタスビルの野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

（R&D/13/666［4.2.3.2-PIB-3 項］，評価資料， GLP 試験）

野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウス（10 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で 4 週間経口投与した。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）に基づき，高用量は投与可能な最大用量，低用量は毒性がみられない用量として設定した。対照群は溶媒を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（ピブレンタスビル，10 例 / 性 / 群；対照群，4 例 / 性 / 群）を設定し，Day 28 に採取した。

本試験においてピブレンタスビルに起因した死亡例はみられなかった。ピブレンタスビルの 3 mg/kg/日の雌 1 例（動物番号 2002）は Day 19 に飼育ケージに関連した傷害により死亡発見された。

一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，ピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-15 に示す。

表 2.6.6-15. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：野生型 TgHras マウスの 4 週間試験）

Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day)		
3	10	100
Mean Plasma Pibrentasvir AUC[a] (μg•hr/mL)		
17.2 ± 0.809	47.4 ± 2.01	110 ± 3.49
Mean Plasma Pibrentasvir C_{max} (μg/mL)		
0.81	2.31	5.25

a. AUC calculated as $AUC_{0\text{-}24h}$ ± SEM of composite data.

以上，ピブレンタスビルの 3，10 及び 100 mg/kg/日を野生型 CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic マウスに 4 週間反復経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。この投与量における Day 28 の C_{max} の平均値は 5.25 μg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 110 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3.4 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（R&D/12/138［4.2.3.2-PIB-4 項］，評価資料， GLP 試験）

雌雄の CD-1 マウス（10 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）に基づき，設定した。高用量は投与可能な最大用量，低用量は毒性がみられない用量として設定した。対照群は溶媒を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（38 例 / 性 / 群）を設定し，Day 1 及び Day 91 に採取した。回復性試験用として対照群と 100 mg/kg/日に各 5 例 / 性 / 群を設け，4 週間休薬した。

本試験では主群の 1 例（100 mg/kg/日）で，被験物質と関連しない眼の傷害のために Day 17 に安楽死を行った。さらに，TK 群において 3 例を，被験物質に起因しないと考えられる一般状態の悪化のために安楽死した。

一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，被験物質に関連した変化はみられなかった。投与量に依存しない変化として，脾臓重量の減少（絶対重量で–30%，相対重量で–20%）がみられた。関連した変化が病理組織学的検査でみられず，休薬期間後に脾臓重量の変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-16. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 13 週間試験）

Collection Interval	Sex	Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day)		
		3	10	100
		Mean Plasma $AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)		
Day 1	Overall	16.4	43.0	141
Day 91	Overall	18.8	48.0	127
		Mean Plasma C_{max} (μg/mL)		
Day 1	Overall	0.820	2.50	8.04
Day 91	Overall	0.917	2.29	6.14

a. Standard deviations were not computed due to the use of composite data.

以上，ピブレンタスビルの 3，10 及び 100 mg/kg/日を CD-1 マウスに 13 週間反復経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。この投与量における Day 91 の C_{max} の平均値は 6.14 μg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 127 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3.5 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

（R&D/13/434［4.2.3.2-PIB-5 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄の CD-1 マウス（20 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で 26 週間経口投与した。投与量は先立って実施した用量設定試験（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）に基づき，設定した。高用量は投与可能な最大用量，低用量は毒性がみられない用量として設定した。対照群は溶媒を投与した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（38 例 / 性 / 群）を設定し，Day 1 及び Day 182 に採取した。回復性試験用として対照群と 100 mg/kg/日に各 10 例 / 性 / 群を設け，8 週間休薬した。

一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，被験物質に関連した変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-17 に示す。

表 2.6.6-17. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：CD-1 マウスの 26 週間試験）

Dose Level (mg/kg/day)	Day 1		Day 182	
	C_{max} (μg/mL)	$AUC^{a}_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC^{a}_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)
3	0.553	10.7 ± 0.287	0.774	16.0 ± 0.977
10	2.03	32.4 ± 1.78	2.61	49.1 ± 3.61
100	5.43	94.0 ± 4.80	6.08	123 ± 7.85

a. AUC calculated as $AUC_{0\text{-}24h}$ ± SEM of composite data.

以上，ピブレンタスビルの 3，10 及び 100 mg/kg/日を CD-1 マウスに 26 週間反復経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。この投与量における Day 182 の C_{max} の平均値は 6.08 μg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 123 μg•hr/mL であった。

2.6.6.3.6 ピブレンタスビルの SD ラットを用いた 3 週間反復混餌投与毒性試験

（R&D/13/340［4.2.3.2-PIB-6 項］，参考資料，非 GLP 試験）

雌雄の SD ラット（10 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，30 及び 100 mg/kg/日の用量で 3 週間経口混餌投与した。本試験ではピブレンタスビルの混餌投与が，強制経口投与よりも曝露量を増加させることができるかを検討した（4.3.4-6 項）。対照群には粉砕した餌を与えた。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群を設定し，Day 7 及び Day 21 に採取した。

対照群の餌にはピブレンタスビルが検出されなかった。30 及び 100 mg/kg/日の混餌における実際の投与量は，それぞれ想定の 4%及び 1%であった。

死亡例はみられなかった。一般状態，体重，摂餌量及び血液学的変化，血液生化学的及び血液凝固検査にピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-18 に示す。

表 2.6.6-18. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（SD ラットの 3 週間試験）

Average Plasma Pibrentasvir Exposures (SEM, Standard Error of the Mean)				
		AUC (ng•hr/mL)		
Dose (mg/kg/day)	Day	M	F	Overall
30	7	378 (69.2)	198 (38.4)	288 (47.9)
	21	357 (66.7)	311 (19.4)	334 (33.7)
100	7	1989 (356)	863 (117)	1426 (258)
	21	1502 (263)	706 (108)	1104 (189)

対照群の TK サンプルからはピブレンタスビルは検出されなかった。Day 7 及び Day 21 の全身曝露量は同様であり，概して投与量の増加に伴って増加した。雌よりも雄の全身曝露量が高く，特に 100 mg/kg/日で顕著であった。

以上，ピブレンタスビルを雌雄の SD ラットに 3 週間混餌投与した結果，忍容性は良好であり，ピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。混餌投与による全身曝露量は強制経口投与のもの（4.3.4-6 項）よりも 10–50 倍低かった。

2.6.6.3.7 ピブレンタスビルの SD ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

（R&D/13/600［4.2.3.2-PIB-7 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄の SD ラット（10 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルの 0，3，10 及び 30 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。高用量の 30 mg/kg/日は投与可能な最大用量として設定した（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）。対照群には溶媒を投与した。検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，血液凝固検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。

死亡例は 4 例みられたが，いずれもピブレンタスビルに起因したものではないと考えられた。一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，血液凝固検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査に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。ピブレンタスビルに起因したが用量に依存しない変化として，血清アルブミンの軽微な減少（–2%から–6%）がみられたが，変化の程度が小さかったことから毒性とは考えられなかった。10 及び 30 mg/kg/日の雄で甲状腺重量が軽度に増加した（対照群と比較して 22%から 42%）が，病理組織学的検査で関連する変化がみられなかったことから，毒性とは考えられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-19 に示す。

表 2.6.6-19. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：ラットの 13 週間試験）

Collection Interval	Sex	Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day) 3	10	30
		Mean Plasma Pibrentasvir AUC[a] (µg•hr/mL)		
Day 1	Males	1.26 ± 0.130	3.07 ± 0.356	7.70 ± 0.696
	Females	0.790 ± 0.0556	2.24 ± 0.203	6.13 ± 0.761
	Overall	1.02 ± 0.0939	2.66 ± 0.217	6.92 ± 0.523
Day 85	Males	2.12 ± 0.138	7.89 ± 2.51	10.2 ± 1.10
	Females	1.23 ± 0.173	2.85 ± 0.383	5.61 ± 0.648
	Overall	1.64 ± 0.175	5.37 ± 1.37	7.94 ± 0.826
		Mean Plasma Pibrentasvir C_{max} (µg/mL)		
Day 1	Males	0.132	0.296	0.988
	Females	0.0845	0.285	0.725
	Overall	0.108	0.290	0.831
Day 85	Males	0.149	0.613	0.832
	Females	0.131	0.298	0.601
	Overall	0.140	0.378	0.722

a. AUC calculated as $AUC_{0\text{-}24h}$ ± SEM of composite data.

以上，ピブレンタスビルの 3，10 及び 30 mg/kg/日をラットに 13 週間反復経口投与した結果，毒性変化はみられなかった。無毒性量は 30 mg/kg/日と考えられた。この投与量における C_{max} の平均値は 0.722 µg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 7.94 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.8 ピブレンタスビルのイヌを用いた 2 週間反復経口投与用量設定試験

（R&D/11/928［4.2.3.2-PIB-8 項］，参考資料，非 GLP 試験）

雌雄のビーグル犬（2 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルの 0，10，30 及び 300 mg/kg/日を 2 週間経口投与した。検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取は Day 1 及び Day 14 に採取した。

本試験においてピブレンタスビルに起因した死亡例はみられず，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査にはピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-20 に示す。

表 2.6.6-20. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：イヌの 2 週間試験）

Collection Interval	Sex	Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day)		
		10	30	300
		Mean Plasma Pibrentasvir $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•hr/mL)		
Day 1	Males	6985.7	19042.2	21066
	Females	16167.4	24035.1	48252.6
Day 14	Males	10538.5	24188.3	35615.1
	Females	10988.6	24206.3	54837.0
		Mean Plasma Pibrentasvir C_{max} (ng/mL)		
Day 1	Males	417.7	1236.3	1664.5
	Females	1250.1	1978.8	3345.5
Day 14	Males	831.5	1952.2	2394.4
	Females	1066.5	2341.8	3814.1

以上，ピブレンタスビルを 0，10，30 及び 300 mg/kg/日をイヌに 2 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。この用量の Day 14 における雌雄の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）はそれぞれ 54.8 及び 35.6 µg•hr/mL，C_{max} は 3.81 及び 2.39 µg/mL であった。

2.6.6.3.9 ピブレンタスビルのイヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（R&D/12/345［4.2.3.2-PIB-9 項］，評価資料，GLP 試験）

雌雄のビーグル犬（4 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルの 3，10 及び 100 mg/kg/日を 13 週間経口投与した。高用量の 100 mg/kg/日は投与可能な最大用量として設定した（R&D/13/1113, 4.2.2.2-11 項）。その他の用量は，発現する変化の用量反応性が評価できる用量を設定した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取は Day 1 及び Day 91 に採取した。回復性試験用として対照群及び 100 mg/kg/日に各 2 例 / 性 /群を設け，4 週間休薬した。

本試験において被験物質に起因した死亡例はみられなかった。

一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査にピブレンタスビルに関連した毒性変化はみられなかった。投与終了時の病理組織学的検査において著変はみられなかったため，休薬期間終了時の病理組織学的検査は実施しなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-21 に示す。

表 2.6.6-21. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 13 週間試験）

Collection Interval	Sex	Pibrentasvir Dosage (mg/kg/day)		
		3	10	100
		Mean Plasma Pibrentasvir AUC_{24} (µg•hr/mL) ± SD		
Day 1	Overall	3.72 ± 0.466	11.0 ± 2.75	27.7 ± 7.46
Day 91	Overall	4.57 ± 2.04	12.8 ± 5.78	32.4 ± 13.0
		Mean Plasma Pibrentasvir C_{max} (µg/mL) ± SD		
Day 1	Overall	0.386 ± 0.0703	1.11 ± 0.333	2.07 ± 0.429
Day 91	Overall	0.421 ± 0.286	1.06 ± 0.327	2.43 ± 0.975

以上，100 mg/kg/日までのピブレンタスビルをイヌに 13 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 91 の C_{max} は 2.43µg/mL，AUC_{0-24h} は 32.4 µg•hr/mL であった。

2.6.6.3.10 ピブレンタスビルのイヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

（R&D/13/172［4.2.3.2-PIB-10 項］，評価資料， GLP 試験）

雌雄のビーグル犬（4 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルの 0，3，10 及び 100 mg/kg/日を 39 週間経口投与した。高用量の 100 mg/kg/日は投与可能な最大用量として設定した（R&D/13/1113, 4.2.2.2-11 項）。その他の用量は，発現する変化の用量反応性が評価できる用量を設定した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用の血液採取は Day 1，Day 98 及び Day 280 に採取した。回復性試験用として対照群及び 100 mg/kg/日に各 2 例 / 性 / 群を設け，8 週間休薬した。

本試験において被験物質に起因した死亡例はみられなかった。一般状態，体重，摂餌量，血液生化学的検査，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査にピブレンタスビルに関連した毒性変化はみられなかった。

ピブレンタスビルに関連した変化として，100 mg/kg/日で Day 92 から Day 277 に網状赤血球数の軽度から中等度の減少（ベースラインと比較で–25%から–62%）がみられたが，その程度が小さく，赤血球系パラメータの減少が伴っていなかったことから毒性とは考えなかった。この変化は 8 週間の休薬期間後はみられなかった。その他の血液学的検査項目に，ピブレンタスビルに関連した毒性変化はみられなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-22 を示す。

表 2.6.6-22. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（雌雄平均値：イヌの 39 週間試験）

Dose Level (mg/kg/day)	Day 1		Day 98		Day 280	
	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)
3	0.244 ± 0.113	1.54 ± 0.679	0.377 ± 0.147	3.66 ± 1.64	0.439 ± 0.173	4.70 ± 1.64
10	0.905 ± 0.731	5.96 ± 5.37	1.13 ± 0.576	13.5 ± 7.31	1.10 ± 0.606	13.7 ± 8.31
100	1.42 ± 0.532	9.72 ± 3.66	2.20 ± 0.287	27.5 ± 5.41	1.92 ± 0.462	25.2 ± 7.99

以上，100 mg/kg/日までのピブレンタスビルをイヌに 39 週間経口投与した結果，被験物質に起因した毒性変化はみられなかった。無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。その際の Day 280 の C_{max} は 1.92 μg/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ は 25.2 μg•hr/mL であった。

2.6.6.4 グレカプレビルの遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 グレカプレビルの細菌を用いた復帰突然変異試験

（R&D/12/270［4.2.3.3.1-GLE-1 項］，評価資料，GLP 試験）

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）を用いてグレカプレビルの突然変異誘発性の有無を，Aroclor™ 1254 で誘導したラット肝 S9 による代謝活性化系の存在下又は非存在下でプレインキュベーション法により評価した。

5 菌株を用い，15，50，150，500，1500 及び 5000 μg/プレートの濃度範囲で検討した結果，有意な復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。5000 μg/プレートにおいて析出がみられた。細胞毒性はみられなかった。

以上の結果から，代謝活性化系の存在下，非存在下に関わらず，グレカプレビルは変異原性誘発能を有さないものと考えられた。

2.6.6.4.2 グレカプレビルヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

（R&D/12/271［4.2.3.3.1-GLE-2 項］，評価資料，GLP 試験）

グレカプレビルの染色体異常誘発能の有無を，培養ヒトリンパ球を用いて，代謝活性化系の存在下又は非存在下で検討した。

予備試験として，グレカプレビルの濃度範囲を 0.5 から 5000 μg/mL に設定し，代謝活性化の存在下で 4 時間及び代謝活性化の非存在下で 20 時間処理した。代謝活性化の存在下では 500 μg/mL 以上で，代謝活性化の非存在下では 50 μg/mL 以上で，対照群と比較し 50%の細胞増加抑制がみられた。これらの結果から，確認試験では，代謝活性化の非存在下の 4 時間処理では 50 から 400 μg/mL，存在下の 4 時間処理では 20 から 200 μg/mL，非存在下の 20 時間処理では 20 から 100 μg/mL を検討することとした。

確認試験では，グレカプレビルの濃度を 150，200 及び 256 μg/mL に設定し，代謝活性化系の非存在下で 4 時間処理した。また，グレカプレビルの濃度を 100，150 及び 185 μg/mL に設定し，

代謝活性化系の存在下で4時間処理した。グレカプレビルの濃度範囲を20，40及び60 μg/mLに設定し，代謝活性化の非存在下で20時間処理を施した。細胞採取は処置後20時間に行った。その結果，いずれの濃度及び処理条件においても染色体構造異常，核内倍加を含む倍数性を持つ細胞数の有意な増加はみられなかった。

以上の結果から，グレカプレビルは代謝活性化系の存在下，非存在下でヒト培養リンパ球において染色体異常誘発能がないものと考えられた。

2.6.6.4.3 グレカプレビルのラット小核試験

（R&D/13/002［4.2.3.3.2-GLE-1項］，評価資料，GLP試験）

SDラットの骨髄細胞を用いてグレカプレビルの小核誘発能の有無を検討した。

予備検討として，グレカプレビルを溶媒（PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124，質量比 70:20:10）で調製し，投与量を1000及び2000 mg/kgに設定し，雌雄ラットに単回経口投与した。死亡例はみられなかった。一般状態として，2000 mg/kgの雄で立毛及び下痢がみられた。体重には著変はみられなかった。性差はみられなかったことから，確認試験では雄を用いることにした。

予備検討の結果を踏まえ，本試験では投与量を500，1000及び2000 mg/kgに設定した。予備検討において性差がみられなかったことから，本試験では雄のみを用いた。1群あたり5例の雄ラットに溶媒，グレカプレビル又は陽性対照物質（シクロフォスファミド［以下「CP」］）を投与し，投与後24時間又は48時間後に骨髄を採取した。死亡例はみられず，一過性の下痢が対照群，1000 mg/kg及び2000 mg/kgでみられた。立毛が2000 mg/kgでみられた。

投与後24時間では，いずれの投与群においても全赤血球中の多染性赤血球の割合（以下「PCE/EC」）に有意な減少はみられなかった。投与後48時間では，MNPCEの出現頻度は最大29%減少した。

被検物質投与群では，対照群と比較して小核を有するPCE（以下「MNPCE」）に有意な増加はみられなかった。なお，陽性対照物質であるCPではMNPCEは有意に増加した。

以上の結果から，ラット骨髄細胞における小核誘発能はないものと考えられた。

2.6.6.4 ピブレンタスビルの遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 ピブレンタスビルの細菌を用いた復帰突然変異試験

（R&D/12/269［4.2.3.3.1-PIB-1項］，評価資料，GLP試験）

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535及びTA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）を用いてピブレンタスビルの突然変異誘発性の有無を，Aroclor™ 1254で誘導したラット肝S9による代謝活性化系の存在下又は非存在下でプレインキュベーション法により評価した。

5菌株を用い，25，50，100，250，500，1000，2500及び5000 μg/プレートの濃度範囲で検討した結果，有意な復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。代謝活性化系の非存在下では1000 μg/プレート以上，存在下では2500 μg/プレート以上において析出がみられた。細胞毒性はみられなかった。

以上の結果から，代謝活性化系の存在下，非存在下に関わらず，ピブレンタスビルは変異原性誘発能を有さないものと考えられた。

2.6.6.4.2 ピブレンタスビルのヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

（R&D/12/265［4.2.3.3.1-PIB-2 項］，評価資料，GLP 試験）

ピブレンタスビルの染色体異常誘発能の有無を，培養ヒトリンパ球を用いて，代謝活性化系の存在下又は非存在下で検討した。

予備試験として，ピブレンタスビルの濃度範囲を ICH ガイダンスにしたがって 1.95 から 500 μg/mL に設定した。その結果，代謝活性化の非存在下の 22 時間処理では 125 μg/mL 以上で，代謝活性化の存在下の 3 時間処理では 500 μg/mL で析出がみられた。この結果を踏まえ，確認試験では，7.81 から 500 μg/mL の濃度範囲でピブレンタスビルの染色体異常誘発能の有無を検討することとした。

確認試験では，ピブレンタスビルの濃度を 15.6，125 及び 250 μg/mL に設定し，代謝活性化系の非存在下で 3 時間処理した。また，ピブレンタスビルの濃度を 15.6，125 及び 250 μg/mL に設定し，代謝活性化系の存在下で 3 時間処理した。ピブレンタスビルの濃度範囲を 7.81，125 及び 250 μg/mL に設定し，代謝活性化の非存在下で 22 時間処理を施した。細胞採取は処置後 22 時間に行った。その結果，いずれの濃度及び処理条件においても染色体構造異常，核内倍加を含む倍数性を持つ細胞数の有意な増加はみられなかった。

以上の結果から，ピブレンタスビルは代謝活性化系の存在下，非存在下でヒト培養リンパ球の染色体異常誘発能がないものと考えられた。

2.6.6.4.3 ピブレンタスビルのマウス小核試験

（R&D/13/014［4.2.3.3.2-PIB-1 項］，評価資料，GLP 試験）

マウスの骨髄細胞を用いてピブレンタスビルの小核誘発能の有無を検討した。

予備検討として，ピブレンタスビルを溶媒（Phosal® 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor® RH40，質量比 40:20:20:20）で調製し，投与量を 2000 mg/kg に設定し雌雄マウス（3 例 / 性）に単回経口投与した。死亡例はみられず，一般状態に著変はみられなかった。

予備検討の結果を踏まえ，本試験では投与量を 500，1000 及び 2000 mg/kg に設定した。予備検討において性差がみられなかったことから，本試験では雄のみを用いた。1 群あたり 5 例の雄マウスに溶媒，ピブレンタスビル又は陽性対照物質（シクロフォスファミド，CP）を投与し，投与後 24 時間又は 48 時間に骨髄を採取した。採取した骨髄を用いて多染性赤血球（以下，「PCE」）を個体あたり 2000 個以上観察し，小核出現頻度を解析した。赤血球に対する毒性指標として，正染性赤血球数及び PCE 数を個体あたり最初に計測した全赤血球 500 個を用いて計数した。トキシコキネティクス測定も実施した。

死亡例はみられず，一般状態に著変はみられなかった。ピブレンタスビルの 2000 mg/kg の投与後 48 時間処理において，統計学的有意な小核を有する PCE（以下，「MNPCE」）の増加がみられたが，2000 mg/kg の MNPCE の平均値（0.11 ± 0.05%）が溶媒群の施設背景値（0.00–0.20%）の範囲内であることから生物学的な意義のあるものではないと考えられた。その他，MNPCE の有意な増加はみられなかった。なお，陽性対照物質である CP では MNPCE は有意に増加した。

以上の結果から，ピブレンタスビルはマウス骨髄細胞において小核誘発能を示さないと考えられた。

2.6.6.5 グレカプレビルのがん原性試験

グレカプレビルの臨床適用投与期間が 6 ヵ月間未満であり，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。

2.6.6.5 ピブレンタスビルのがん原性試験

ピブレンタスビルの臨床適用投与期間が 6 ヵ月間未満であり，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。

2.6.6.6 グレカプレビルの生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 グレカプレビルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 グレカプレビルの SD 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

（R&D/14/0683［4.2.3.5.1-GLE-1 項］，評価資料，GLP 試験）

SD ラット（25 例 / 性 / 群）にグレカプレビルを 0，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量で 1 日 2 回に分け，6 時間間隔で経口投与した。溶媒として PEG-400:Tween 20: Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。高用量は先立って実施したラットの用量設定試験（R&D/11/575, 4.2.3.2-GLE-4 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。雄ラットへの投与は，交配期間前 14 日から交配期間を通じて剖検日まで，雌ラットへの投与は交配期間前 14 日から交配期間を通じて妊娠 7 日まで経口投与した。

検査項目は，一般状態，体重，摂餌量，性周期観察，生殖行動，受胎能，卵巣及び子宮の観察，生殖器官重量，病理組織学的検査とした。

被験物質に起因した死亡はみられなかった。対照群の雌 1 例が妊娠 8 日に死亡発見された。死因は投与手技に起因すると考えられた（胸腔液，食道の裂孔，肺の赤色化がみられた）。120 mg/kg の雄 1 例及 40 mg/kg の雌 1 例が，それぞれ交配期間に死亡発見された。これらの動物は死亡発見される数日前から鼻周辺に赤色物がみられていた。これらの動物の死因は確認されていないが，用量依存性がみられない発現であり，ラットの反復投与毒性試験において同じ用量でグレカプレビルに関連した毒性変化はみられていないことから，グレカプレビルに起因したものではないと考えられた。その他，一般状態，体重，摂餌量，性周期観察，生殖行動，受胎能，卵巣及び子宮の観察，生殖器官重量，病理組織学的検査において著変はみられなかった。

以上，SD ラットにグレカプレビルを 0，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量で経口投与した結果，性周期，交配，受胎能，胚の生存等に影響がみられなかった。本試験におけるグレカプレビルの一般状態並びに受胎能及び着床までの初期胚発生に関する無毒性量は雌雄ともに 120 mg/kg/日と考えられた。この用量における曝露量（AUC_{0-24h}）は，13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の TK 結果において，657 μg•hr/mL であった。

2.6.6.6.2 グレカプレビルの胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 グレカプレビルの SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（予備試験）

（R&D/12/943［4.2.3.5.2-GLE-1 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ラット（SD）にグレカプレビルの 0，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量を，1 日 2 回に分けて，6 時間間隔で妊娠 6 日から妊娠 18 日の期間に経口投与し，妊娠 20 日に帝王切開に供した。対照群には 25 例 / 性，グレカプレビル群には 10 例 / 群 / 性を割り当てた。溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。高用量は先立って実施したラットの用量設定試験（R&D/11/575，4.2.3.2-GLE-4 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。

検査項目は，トキシコキネティクス（3 例 / 群），一般状態，体重，体重増加量，剖検，卵巣及び子宮検査及び胎児検査とした。トキシコキネティクス用サンプルは妊娠 6 日及び妊娠 17 日に採取した。さらに，妊娠 18 日の 2 回目の投与後 2 時間に母動物及び胎児から血液サンプルを採取した。

いずれの検査項目においても死亡例はみられなかった。グレカプレビルに関連した変化は母動物及び胎児にみられなかった。

10，40 及び 120 mg/kg/日の妊娠 6 日における AUC はそれぞれ，21.7，207 及び 472 μg•hr/mL であり，妊娠 17 日ではそれぞれ，40.2，287 及び 625 μg•hr/mL であった。妊娠 18 日の母動物に対する胎児の曝露量は，各用量で同様であった（0.19 から 0.21）。

以上の結果から，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 120 mg/kg/日であり，この投与量における妊娠 17 日の母動物の曝露量は 625 μg•h/mL であった。

2.6.6.6.2.2 グレカプレビルの SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

（R&D/13/913［4.2.3.5.2-GLE-2 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ラット（SD）を 1 群あたり 25 例の 4 群に割り当て，グレカプレビルの 0，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量を，1 日 2 回に分けて，6 時間間隔で妊娠 6 日から妊娠 18 日の期間に経口投与し，妊娠 20 日に帝王切開に供した。対照群には 25 例 / 性，グレカプレビル群には 10 例 / 群 / 性を割り当てた。溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。高用量は先立って実施したラットの用量設定試験（R&D/11/575，4.2.3.2-GLE-4 項）及び SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験（R&D/12/943，4.2.3.5.2-GLE-1 項）に基づいて設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。

検査項目は，トキシコキネティクス（5 例 / 群），一般状態，体重，体重増加量，剖検，卵巣及び子宮検査及び胎児検査（性別，外表検査，内臓検査，骨格検査）とした。トキシコキネティクス用サンプルは妊娠 6 日及び妊娠 17 日に採取した。さらに，妊娠 18 日の 2 回目の投与後 2 時間に母動物及び胎児から血液サンプルを採取した。

いずれの検査項目においても死亡例はみられなかった。グレカプレビルに関連した変化は母動物及び胎児にみられなかった。

10，40 及び 120 mg/kg/日の妊娠 6 日における AUC はそれぞれ，25.3，261 及び 1030 μg•hr/mL であり，妊娠 17 日ではそれぞれ，55.9，318 及び 559 μg•hr/mL であった。妊娠 18 日の母動物に対する胎児の曝露量は，各用量で同様であった（0.19 から 0.27）。

以上の結果から，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 120 mg/kg/日であり，この投与量における妊娠 17 日の母動物の曝露量は 559 μg•h/mL であった。グレカプレビルは催奇形性を示さなかった。

2.6.6.6.2.3 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（予備試験）

（R&D/12/988［4.2.3.5.2-GLE-3 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ウサギ（New Zealand White）を 1 群あたり 10 例の 3 群に割り当て，各群の動物にグレカプレビルの 0（溶媒），50 及び 300 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与した。高用量の 300 mg/kg/日は，先立って実施した探索的 TK 試験の結果（R&D/13/1122, 4.2.2.2-6 項）に基づいて設定した。溶媒には PEG-400:Tween 20: Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を用いた。胚・胎児毒性を評価するため，母動物は妊娠 29 日に帝王切開した。

検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，子宮重量，黄体数，着床数，早期及び後期吸収胚数，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，胎児の外表検査及び内臓検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（2 例 / 群）の妊娠ウサギから妊娠 7 日及び妊娠 17，又は 18 日に採取した。また，妊娠 19 日の投与後 2 時間に母動物及び胎児から血液サンプルを採取した。

一般状態において，便性異常（少量便，無便，軟便，粘液便，水様便）がみられ，体重増加量及び摂餌量の減少が，対照群を含むすべての投与群でみられた。これらの変化は対照群と比較して，グレカプレビル投与群で変化の程度が強く現れた。

摂餌量及び体重減少は対照群でもみられた。対照群の雌 1 例が妊娠 29 日の帝王切開前に出産した。対照群の体重減少は 0.029–0.042 kg であった。したがって，これらの変化は，溶媒に起因すると考えられた。

50 mg/kg/日では摂餌量の減少がみられたが，対照群と同程度であった。対照群の摂餌量の減少は投与終了後，投与前のレベルに回復したが，50 mg/kg/日の投与終了後の摂餌量は，対照群と比較して 29%低い値であった。50 mg/kg/日の体重減少は，0.006–0.063 kg であった。同群では妊娠 26 日に 2 例，妊娠 27 日に 1 例が流産した。これら 3 例では妊娠 11 日から体重減少がみられた。これらの流産はグレカプレビルの母体毒性に起因したものと考えられた。

300 mg/kg/日では，死亡例及び重篤な毒性（摂餌量の減少，有意な体重減少）がみられた。体重は 0.071–0.119 kg 減少し，摂餌量は対照群と比較して 59%低い値を示した。妊娠 16 日に瀕死状態を呈したため安楽死した 1 例では，摂餌量と体重が著しく減少した。さらに，妊娠 7–17 日では摂餌量の著しい減少（7 例でそれぞれ 1 日 13 g 以下の摂餌量）及び体重減少（9 例で 5%–19%の減少）がみられた。これらの重篤な変化がみられたことから，300 mg/kg/日を妊娠 17 日に安楽死した。これらの変化はグレカプレビルの母体毒性と考えられた。

50 及び 300 mg/kg/日の妊娠 7 日における AUC_{0-24h} はそれぞれ，2.5 及び 51.7 μg•hr/mL であり，妊娠 17 日又は 18 日ではそれぞれ，2.3 及び 6.6 μg•hr/mL であった。胎児の曝露量は，検出限界以下であり，妊娠 19 日の母動物に対する胎児の曝露量の比率は算出できなかった。

50 mg/kg/日において 5 例の母動物から得られた胎児において，胎児体重，外形検査及び内臓検査にグレカプレビルに起因する変化はみられなかった。

以上の結果から，グレカプレビルの 50 及び 300 mg/kg/日において母体毒性がみられた（母動物の曝露量は 2.3 μg•hr/mL 以上）。300 mg/kg/日では重篤な毒性がみられ安楽死したため，胎児に対する影響を評価できなかった。50 mg/kg/日ではグレカプレビルの胎児に対する評価を結論付けるには動物数が十分ではなかった。非妊娠動物においては明らかに不良な忍容性を示していなかったが（R&D/12/557, 4.2.3.7.7-GLE-3 項），母体毒性は溶媒の影響を受けた可能性が考えられた。

2.6.6.6.2.4 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（予備試験 2）

（R&D/13/840［4.2.3.5.2-GLE-4 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ウサギ（New Zealand White）を 1 群あたり 10 例の 3 群に割り当て，各群の動物にグレカプレビルの 0（溶媒），30，100 及び 300 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与した。高用量の 300 mg/kg/日は，先立って実施した探索的 TK 試験の結果（R&D/13/1122, 4.2.2.2-6 項）に基づき設定した。溶媒には Ethanol:PEG-400:Phosal 53 MCT（質量比，10:30:60）を用いた。トキシコキネティクス測定用に，サテライト群（3 例 / 群）を設定したが，主群の 100 及び 300 mg/kg では摂餌量の著しい減少（1 日あたり 100 g 未満）がみられたため，妊娠 16 日以降，サテライト群を主群の評価に追加した。胚・胎児毒性を評価するため，母動物は妊娠 29 日に帝王切開した。

検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，子宮重量，黄体数，着床数，早期及び後期吸収胚数，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，胎児の外表検査及び内臓検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（3 例 / 群）の妊娠ウサギから妊娠 7 日に採取した。

100 及び 300 mg/kg/日では，一般状態において，便性異常，尿量減少，尿の色調変化，肛門及び生殖器周囲の汚れ，削痩がみられ，体重及び体重増加量並びに摂餌量の減少がみられた。100 mg/kg/日の 2 例と 300 mg/kg/日の 1 例では早産が，300 mg/kg/日の 1 例では全胚吸収がみられた。300 mg/kg/日では，胚吸収数（早期，後期及びその混合型）の増加に伴って，着床後胚損失が増加した。これらの変化は試験施設の背景値の範囲を超えており，統計学的に有意にみられた。胚吸収については対照群では 2/10 例でみられたが，300 mg/kg/日では 8/13 例でみられた。したがって，着床後胚損失及び胚吸収の増加はグレカプレビルに起因した変化であり，母体毒性に起因した変化であると考えられた。

100 及び 300 mg/kg/日では，対照群と比較して，胎児体重の平均値が統計学的に有意に減少（13%–21%）した。この変化もグレカプレビルに起因し，母体毒性に起因したものであると考えられた。胎児の外表検査及び内臓検査において著変はみられなかった。

30，100 及び 300 mg/kg/日の妊娠 7 日における AUC は，それぞれ 0.41，2.2 及び 14.6 μg•hr/mL であった。

以上の結果から，グレカプレビルの 30 mg/kg/日及び対照群では母体毒性及び胎児毒性はみられなかった。母動物及び胎児における無毒性量は 30 mg/kg/日と考えられた。この用量における AUC_{0-24h} は 0.41 μg•hr/mL であった。100 mg/kg/日（2.2 μg•hr/mL）以上では母体毒性に起因する胎児毒性がみられた。

2.6.6.6.2.5 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

（R&D/13/679［4.2.3.5.2-GLE-5 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ウサギ（New Zealand White）を 1 群あたり 20 例の 3 群に割り当て，各群の動物にグレカプレビルの 0（溶媒），20 及び 60 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与した。高用量の 60 mg/kg/日は，先立って実施したウサギの胚・胎児発生に関する試験の予備試験 2（R&D/13/840，4.2.3.5.2-GLE-4 項）において母動物及び胎児の無毒性量が 30 mg/kg/日であり，100 mg/kg/日では著しい毒性がみられた結果に基づいて設定した。溶媒には Ethanol:PEG-400:Phosal 53 MCT（質量比，10:30:60）を用いた。トキシコキネティクス測定用に，サテライト群（5 例 / 群）を設定した。胚・胎児毒性を評価するため，母動物は妊娠 29 日に帝王切開した。検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，剖検，着床数，早期及び後期吸収胚数，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，黄体数，子宮重量，胎児の外表検査，内臓検査及び骨格検査とした。

その結果，グレカプレビルに起因する変化はみられなかった。

妊娠 18 日における 20 及び 60 mg/kg/日の AUC_{0-24h} は，それぞれ 0.13 及び 0.73 μg•hr/mL であった。胎児の曝露量は，検出限界以下であり，母動物に対する胎児の曝露量の比率は算出できなかった。

以上の結果から，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 60 mg/kg/日であり，この投与量における妊娠 18 日の母動物の曝露量は 0.73 μg•hr/mL であった。グレカプレビルは催奇形性を示さなかった。

2.6.6.6.3 グレカプレ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

2.6.6.6.3.1 グレカプレビルのラットを用いた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

（R&D/16/0239［4.2.3.5.3-GLE-1 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ラット（22/ 群）にグレカプレビルを 0，10，40 及び 120 mg/kg/日の用量を 1 日 2 回に分け，6 時間間隔で妊娠 6 日から分娩後 20 日又は妊娠 24 日（未分娩の場合）まで強制経口投与した。溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。高用量である 120 mg/kg/日は先立って実施したラットの用量設定試験（R&D/11/575，4.2.3.2-GLE-4 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。トキシコキネティクス測定用にサテライト群（6 例 / 群）を設定した。

出生児（F1）（22 例 / 群/ 性）には直接投与を実施せず，妊娠期間中は胎盤を介し，出生後は授乳を通した母体からの被験物質曝露を想定した。

母動物（F0）の検査項目は，生死の有無，一般状態，体重，体重増加量，母体行動，自然分娩の有無，トキシコキネティクス及び剖検とした。出生児（F1）の検査項目は，生死の有無，一般状態，体重，体重増加量，性成熟，行動検査（受動回避検査，自発運動量，水迷路），トキシコキネティクス及び剖検とした。

グレカプレビルの投与に起因した死亡はみられなかった。10 mg/kg/日の 1 例を，一般状態の悪化のため安楽死し，120 mg/kg/日の 1 例を死亡発見した。これらの死亡例は，用量依存性がみられず，関連した毒性変化がみられなかったことから，グレカプレビルとは関連しない変化と考えられた。その他の母動物及び出生児では死亡例はみられなかった。

その他の検査項目にはグレカプレビルに起因した変化はみられなかった。母動物に対する無毒性量は 120 mg/kg/日と考えられ，その際の全身曝露量は 492 μg•hr/mL であった。出生児の無毒性量は 120 mg/kg/日と考えられた。.

2.6.6.6.4 グレカプレビルの幼若動物を用いた毒性試験

幼若動物を用いたグレカプレビルの毒性試験は実施していない。グレカプレビルの反復投与毒性試験においてみられた被験物質に関連した変化は肝酵素の増加（イヌ），胃の変化（ラット）に限定される。これらの変化は成人と小児で同様に発現すると考えられる。

2.6.6.6 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ピブレンタスビルの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ピブレンタスビルのマウス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

（R&D/14/0682［4.2.3.5.1-PIB-1 項］，評価資料，GLP 試験）

CD-1 マウス（30 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で経口投与した。溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を使用した。高用量は先立って実施した薬物動態学検討試験（R&D/13/1113, 4.2.2.2-11 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。雄マウスへの投与は，交配期間前 14 日から交配期間を通じて剖検日まで，雌マウスへの投与は交配期間前 14 日から交配期間を通じて妊娠 6 日まで経口投与した。その他，トキシコキネティクス測定用に雄のマウス 18 例 / 群に経口投与を実施した。

検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，性周期観察，生殖行動，受胎能，卵巣及び子宮の観察，生殖器官重量（雄のみ），病理組織学的検査とした。

雄のトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-23 に示す。

表 2.6.6-23. トキシコキネティクスデータ（平均値：雄マウス，Day 35/36）

Dose Level (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	C_{max}/D [(μg/mL)/(mg/kg)]	T_{max} (hr)	AUC_{0-24h} (μg•hr/mL)	AUC/D [(μg•hr/mL)/(mg/kg)]
3	1.01	0.3370	12	21.2	7.06
10	3.54	0.3540	12	69.1	6.91
100	6.95	0.0695	12	153.0	1.53

被験物質に起因した死亡はみられなかった。一般状態，体重，摂餌量，性周期観察，生殖行動，受胎能，卵巣及び子宮の観察，生殖器官重量（雄のみ），病理組織学的検査ではピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

以上，CD-1 マウスにピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で経口投与した結果から，性周期，交配，受胎能，胚の生存等に影響がみられなかった。本試験におけるピブレンタスビルの一般状態並びに受胎能及び着床までの初期胚発生に関する無毒性量は雌雄ともに 100 mg/kg/日と考えられた。この用量における曝露量（AUC_{0-24h}）は雄で 153.0 μg•hr/mL，C_{max} は 6.95 μg/mL であった。

2.6.6.6.2 ピブレンタスビルの胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた胚・胎児発生に関する試験（予備試験）

（R&D/13/253［4.2.3.5.2-PIB-1 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠マウス（CD-1）に 10 例 / 群 / 性を割り当て，ピブレンタスビルの 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量を妊娠 6 日から妊娠 15 日の期間に経口投与し，妊娠 18 日に帝王切開に供した。高用量は先立って実施した薬物動態学検討試験（R&D/13/1113、4.2.2.2-11 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を使用した。

検査項目は，トキシコキネティクス（母動物及び胎児），母動物の一般状態，体重，体重増加量，剖検，卵巣及び子宮検査及び胎児検査とした。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-24 に示す。：

表 2.6.6-24. ピブレンタスビルの母動物におけるトキシコキネティクスデータ及び胎児/母動物濃度比（平均値：マウス胚・胎児発生に関する用量設定試験）

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_g (hr)	$AUC_{0-24\,h}$ (μg•/hr/mL)	Fetal/Maternal Concentrations (Ratio)
3	0.436	6.0	7.29	0.0889
10	1.53	9.0	26.8	0.114
100	3.35	12.0	64.8	0.0903

いずれの検査項目においても死亡例はみられなかった。ピブレンタスビルに関連した変化は母動物及び胎児にみられなかった。

以上の結果から，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.2.2 ピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた胚・胎児発生に関する試験

（R&D/13/950［4.2.3.5.2-PIB-2 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠マウス（CD-1）に 25 例 / 群 / 性を割り当て，ピブレンタスビルの 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量を妊娠 6 日から妊娠 15 日の期間に経口投与し，妊娠 18 日に帝王切開に供した。高用量は先立って実施した薬物動態学検討試験（R&D/13/1113、4.2.2.2-11 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を使用した。

検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，子宮重量，黄体数，着床数，早期及び後期吸収胚数，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，胎児の外表検査，内臓検査及び骨格検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群の妊娠マウスから採取した。

ピブレンタスビルの母動物及び胎児のトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-25 及び表 2.6.6-26 に示す。

表 2.6.6-25. ピブレンタスビルの母動物におけるトキシコキネティクスデータ（平均値：マウス胚・胎児発生に関する試験）

	Gestation Day 15		
Dose (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)
3	0.534	9	9.63
10	1.29	6	23.6
100	3.48	3	73.1

表 2.6.6-26. ピブレンタスビルの胎児におけるトキシコキネティクスデータ（平均値：マウス胚・胎児発生に関する試験）

	Gestation Day 15		
Dose (mg/kg/day)	Fetal (μg/mL)	Maternal (μg/mL)	Ratio (Fetal/Maternal)
3	0.0101	0.404	0.0239
10	0.0691	0.967	0.0725
100	0.228	3.04	0.0729

いずれの検査項目においても死亡例はみられなかった。ピブレンタスビルに関連した変化は母動物及び胎児にみられなかった。

以上の結果から，母動物及び胎児における無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日であり，この投与量における母動物の曝露量は C_{max} が 3.48 μg/mL，AUC_{0-24h} は 73.1 μg•hr/mL であった。ピブレンタスビルは催奇形性を示さなかった。

2.6.6.6.2.3 ピブレンタスビルのウサギを用いた経口投与による母動物忍容性試験

（R&D/13/958［4.2.3.5.2-PIB-3 項］，参考資料，非 GLP 試験）

妊娠ウサギ（New Zealand White）を 1 群あたり 3 例の 3 群に割り当て，各群の動物にピブレンタスビルの 0（溶媒），10 及び 100 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与し，経口投与による忍容性を検討した。溶媒には Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を用いた。トキシコキネティクス測定用サンプルは投与後 1.5，3，4，6，9，12 及び 24 時間に採取した。

検査項目は，母動物の死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，トキシコキネティクス，妊娠の有無，剖検とした。

トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-27 に示す。

表 2.6.6-27. ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの忍容性試験）

	Gestation Day 7			Gestation Day 19		
Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0-24\ h}$ (μg•hr/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0-24\ h}$ (μg•hr/mL)
10	0.0429	3.2	0.279	0.0339	2.0	0.191
100	0.212	3.0	1.23	0.134	2.3	0.802

ピブレンタスビルに起因した死亡例はみられず，一般状態及び剖検においてピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。100 mg/kg の 1 例が妊娠 11 日に死亡発見された。死後剖検の所見から，死因は投与手技のミスによるものと考えられた。

投与期間を通して，100 mg/kg/日の残りの 2 例では対照群（0.21 kg）と比較して，体重減少（–0.08 kg）がみられた。そのうち 1 例の体重減少は，摂餌量（54 g/日）が対照群（120.6 g/日）よりも少なく，少量便がみられた。

以上，妊娠ウサギ（New Zealand White）にピブレンタスビルの 0，10 及び 100 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与した結果，100 mg/kg/日の 2 例中 1 例で摂餌量の減少を伴った体重減少がみられた。限定的な動物数のため，これらの変化がピブレンタスビルに起因するかは不明だった。

2.6.6.6.2.4 ピブレンタスビルのウサギを用いた胚・胎児発生の試験

（R&D/13/638［4.2.3.5.2-PIB-4 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠ウサギ（New Zealand White）を 1 群あたり 20 例の 3 群に割り当て，各群の動物にピブレンタスビルの 0（溶媒），10 及び 100 mg/kg/日を妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に経口投与した。高用量は先立って実施した薬物動態学検討試験（R&D/13/1113, 4.2.2.2-11 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を使用した。トキシコキネティクス測定用に，サテライト群（5 例 / 群）を設定した。母動物は妊娠 29 日に帝王切開した。

検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，子宮重量，黄体数，着床数，早期及び後期吸収胚数，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，胎児の外表検査，内臓検査及び骨格検査とした。トキシコキネティクス測定用のサンプルは，サテライト群（3 例 / 群）の妊娠ウサギから採取した。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-28 及び表 2.6.6-29 に示す。

表 2.6.6-28. ピブレンタスビルの母動物のトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験，妊娠 7 日）

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (µg•hr/mL)
10	0.0789	3.3	0.449
100	0.210	3.4	1.26

表 2.6.6-29. ピブレンタスビルの母動物のトキシコキネティクスデータ（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験，妊娠 19 日）

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (µg•hr/mL)
10	0.0728	3.3	0.404
100	0.259	3.8	2.11

妊娠 20 日における母動物に対する胎児の血漿中濃度は，10 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日で同様であった（表 2.6.6-30）。

表 2.6.6-30. 胎児 / 母動物曝露量の比（平均値：ウサギの胚・胎児発生に関する試験）

	Gestation Day 20 Plasma Concentration (ng/mL)		
Dose (mg/kg)	Maternal - 2 hr	Fetal - 2 hr	Ratio (Fetal: Maternal)
10	5.31	0.165	0.0237
100	58.4	1.27	0.0251

母体毒性により死亡例（死亡発見及び安楽死例を含む）又は流産が，妊娠 20 日から妊娠 29 日に対照群を含む全群でみられた（対照群，5 例；10 mg/kg/日，4 例；100 mg/kg/日，3 例）。これらの動物では，脱水症状，削痩，摂餌量の減少を伴う体重又は体重増加量の減少がみられた。全群でみられたこれらの変化は溶媒に起因すると考えられた。

生存例においては，被毛状態の悪化，水様便，少量便，体重又は体重増加量の減少並びに摂餌量の減少がみられた。全群でみられたこれらの変化も，ピブレンタスビルというよりも溶媒に起因した変化と考えられた。

ピブレンタスビルに起因する剖検所見はみられなかった。

生存性では，卵巣，子宮重量，胎児の生存，胎児重量に著変はみられず，胎児の外表検査，内臓検査及び骨格検査にはピブレンタスビルに起因した変異や奇形はみられなかった。

以上，本試験では，対照群を含む全群で死亡，摂餌量の減少を伴った体重減少が等，母体毒性がみられた。これらの変化は溶媒に起因すると考えられた。流産は対照群を含む全群でみられたが，溶媒に起因する母体毒性の 2 次的影響によるものと考えられた。生存例ではピブレンタスビルに起因する着床後胚損失，胎児体重の減少はみられず，外表検査，内臓検査及び骨格検査に著変はみられなかった。母動物の無毒性量は本試験では求められなかった。胎児の無毒性量は，100 mg/kg であり，その際の母動物の曝露量は，C_{max} は 0.259 μg/mL，AUC_{0-24h} は 2.11 μg•hr/mL であった。

2.6.6.6.2.5　ピブレンタスビルの非妊娠ウサギを用いた静脈内投与による用量設定試験

（R&D/13/248［4.2.3.5.2-PIB-5 項］，参考資料，非 GLP 試験）

雌ウサギ（New Zealand White）は 1 群あたり 3 例を 4 群に割り当て，各群の動物にピブレンタスビルの 0（溶媒），2.5，5 及び 10 mg/kg/日を投与容量 1 mL/kg に設定し，Day 1 から Day 10 の期間に 15 ± 1 分をかけて，耳翼辺縁静脈から静脈内投与した。溶媒として PEG-300: D5W: Tween 80（質量比，89.5/10/0.5）を使用した。トキシコキネティクス測定用に，サテライト群（5 例 / 群）を設定した。

検査項目は，死亡の有無（2 回/日），一般状態（投与前 1 回，投与後 4 時間まで 1 回/時間及び夕刻 1 回，特に投与部位の局所刺激反応を注意深く観察），体重及び体重増加量，摂餌量及び剖検とした。

ピブレンタスビルに起因した死亡例はみられなかった。

投与部位の色調変化が対照群を含む全群でみられた。この変化は投与期間中にみられた。さらに，10 mg/kg/日の全例で耳介の 3 から 8 ヵ所で浮腫がみられた。色調変化（紫色 / 赤色）は，耳介縁にそって，複数個所又は全体的にみられた。浮腫は耳介の付け根の部分に主にみられ，痂皮が耳介縁でみられた。これらの投与部位は，反復投与の継続に影響を及ぼさなかった。その他の変化は，一過性でみられたか，用量依存性がみられなかったことから，ピブレンタスビルに起因しない変化と考えられた。

投与期間を通して，体重にピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。Day 11 の 2.5，5 及び 10 mg/kg の体重は，対照群と比較して，それぞれ 99%，104%及び 99%であった。

投与期間を通して，摂餌量にピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。個体間差はみられたものの，摂餌量において用量依存的な減少はみられず，2.5，5 及び 10 mg/kg の Day 1 から Day 11 の摂餌量は，対照群と比較して，それぞれ 58%，92%及び 83%であった。

剖検において，両耳介の色調変化がみられた。その他の器官において，著変はみられなかった。

以上，本試験で用いた用量においてピブレンタスビルの静脈内投与は，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験を実施できる程度の忍容性を示した。

2.6.6.6.2.6 ピブレンタスビルのウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験

（R&D/13/321［4.2.3.5.2-PIB-6 項］，参考資料，非 GLP 試験）

本試験では，全群で母動物に死亡及び流産，一般状態の悪化がみられたことから妊娠 23 日又は 24 日に中止した。以下は，試験方法及び試験中止までの要約である。

妊娠ウサギ（New Zealand White）は 1 群あたり 10 例を 4 群に割り当て，各群の動物にピブレンタスビルの 0，2，5 及び 10 mg/kg/日について投与容量を 1 mL/kg とし，妊娠 7 日から妊娠 19 日の期間に 15 ± 1 分かけて静脈内投与した。溶媒には PEG-300: D5W: Tween 80（質量比，89.5/10/0.5）を用いた。トキシコキネティクス測定用サンプルはサテライト群（3 例 / 群）を設定して採取した。

検査項目は，死亡の有無，一般状態，体重及び体重増加量，摂餌量，子宮重量，黄体数及び剖検とした。可能な場合は，生存胎児数，死亡胎児数，胎児体重，胎児の性別，胎児の外表検査及び内臓検査を検査項目に含むこととした。

妊娠 7 日及び妊娠 19 日に，投与後 0.25，0.5，1，2，3，6，12 及び 24 時間にトキシコキネティクス測定用の血液サンプルを採取した。妊娠 20 日には投与後 2 時間に母動物と胎児から血液サンプルを採取した。

母動物毒性として，妊娠 17 日から妊娠 24 日にかけて，全群で死亡例（死亡発見又は安楽死；0，2，5 及び 10 mg/kg/日でそれぞれ 3，5，4 及び 4 例）がみられた。これらの動物では一般状態の変化（耳介の浮腫 / 出血，被毛の異常，脱水症状，流産），体重 / 体重増加量の減少及び摂餌量の減少がみられた。これらの死亡は溶媒に起因すると考えられたため，妊娠 23 日又は 24 日に全例を安楽死した。

対照群及びピブレンタスビル群では，壊死，浮腫，出血，すり傷，色調変化，腐肉等の注射部位反応がみられた。これらの変化は，対照群及びピブレンタスビル群でみられたことから，溶媒に起因した変化と考えられた。

0，2，5 及び 10 mg/kg/日の妊娠 7 日から妊娠 20 日の体重増加量の減少は，それぞれは 0.1，0.1，–0.1 及び 0.01 kg であった。これらの体重増加量の減少は摂餌量の減少を伴っていた。妊娠 7 日から妊娠 20 日の摂餌量の平均値は，0，2，5 及び 10 mg/kg/日でそれぞれ 132.1，122.3，122.2 及び 126.4 g/日であり，妊娠 7 日以降に減少する傾向がみられた。

0，2，5 及び 10 mg/kg/日の動物のうち，妊娠が確認された例数は 9，10，9 及び 9 例であった。妊娠 21 日前に死亡発見，安楽死又は流産した動物では全胎児の死亡が確認され，母体毒性に起因すると考えられた。妊娠 23 日又は妊娠 24 日に安楽死した動物では，着床状態に影響はみら

れなかった。本試験では早期に中止し，その結果，十分な妊娠期間を確保することができなかったことから，胎児の評価は限定的であり，胚・胎児発生に関する試験として十分な評価はできなかった。

ピブレンタスビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-31 及び表 2.6.6-32 に示す。

表 2.6.6-31. ピブレンタスビルの妊娠 7 日及び 19 日における母動物おトキシコキネティクスデータ（平均値，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験）

	Gestation Day 7			Gestation Day 19		
Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (μg•hr/mL)
2	2.67	0	2.76	1.83	0	2.63
5	6.84	0	8.16	2.52	1	4.76
10	15.9	0	12.4	10.2	0	21.2

表 2.6.6-32. ピブレンタスビルの妊娠 20 日の胎児におけるトキシコキネティクスデータ（平均値，ウサギの胚・胎児発生に関する用量設定試験）

Dose (mg/kg)	Fetal Concentration (μg/mL)	Maternal Concentration (μg/mL)	Ratio (Fetal: Maternal)
2	0	1.71	0
5	0.0169	8.04	0.00204
10	0.0527	17.2	0.00306

以上，妊娠ウサギにピブレンタスビルの 0，2，5 及び 10 mg/kg/日を静脈内投与した結果，対照群及びピブレンタスビル群で，重篤な注射部位反応がみられた。これらの変化は，溶媒に起因した変化と考えられた。さらに，摂餌量の減少を伴った体重 / 体重増加量の減少がみられた。全群で母動物に死亡及び流産，一般状態の悪化がみられたことから妊娠 23 日又は 24 日に中止した。したがって，胚・胎児発生に関する試験として十分な評価はできなかった。

2.6.6.6.3 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

2.6.6.6.3.1 ピブレンタスビルのマウスを用いた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

（R&D/15/0822［4.2.3.5.3-PIB-1 項］，評価資料，GLP 試験）

妊娠マウス（25 例 / 群）にピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量を 1 日 1 回，妊娠 6 日から分娩後 20 日又は妊娠 22 日（未分娩の場合）まで強制経口投与した。溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。高用量である 100 mg/kg/日は先立って実施したマウス試験（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）に基づいて投与可能な最大用量を設定した。その他の用量は用量反応性を確認できる用量を設定した。トキシコキネティクス測定用にサテライト群（6–18 例 / 群）を設定した。

出生児（F1）（22 例 / 群/ 性）には直接投与を実施せず，妊娠期間中は胎盤を介し，出生後は授乳を通した母体からの被験物質曝露を想定した。

母動物（F0）の検査項目は，生死の有無，一般状態，体重，体重増加量，母体行動，自然分娩の有無，トキシコキネティクス及び剖検とした。出生児（F1）の検査項目は，生死の有無，一般状態，体重，体重増加量，性成熟，行動検査（受動回避検査，自発運動量，水迷路），生殖行動，トキシコキネティクス及び剖検とした。

ピブレンタスビルの投与に起因した死亡はみられなかった。5 例の母動物が死亡又は安楽死した。これらのうち 3 例（2 例が対照群，1 例が 10 mg/kg 群）は死亡発見され，2 例（3 mg/kg 群及び 10 mg/kg 群の各 1 例）は安楽死した。これらの死亡例は，用量依存性がみられず，関連した毒性変化がみられなかったことから，ピブレンタスビルとは関連しない変化と考えられた。

妊娠期間、分娩及び授乳期間を通して，母動物においてピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

雌雄の出生児おいても，ピブレンタスビルに起因した変化はみられなかった。

表 2.6.6-33.　ピブレンタスビルの母動物（F0）及び出生児（F1）における血漿中濃度（平均値：マウス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）

	F0 Generation: Lactation Day 14	
Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)	AUC (µg•hr/mL)
3	1.19	14.5
10	2.99	32.4
100	7.58	107

Dose (mg/kg)	F1 Generation: Postnatal Day 14
3	0.0837 µg/mL
10	0.210 µg/mL
100	1.22 µg/mL

妊娠マウスにピブレンタスビルを 0，3，10 及び 100 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から分娩後 20 日又は妊娠 22 日（未分娩の場合）まで強制経口投与し，母動物及び出生児への影響を検討した結果，ピブレンタスビルに起因する毒性変化はみられなかった。母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられ，その際の母動物の全身曝露量（分娩 14 日）は 107 µg•hr/mL であった。出生児の無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.4　ピブレンタスビルの幼若動物を用いた毒性試験

幼若動物を用いたピブレンタスビルの毒性試験は実施しなかった。ピブレンタスビルの反復投与毒性試験においてみられた被験物質に関連した変化はイヌの 39 週間反復投与毒性試験でみられた，個体別ベースラインと比較した網状赤血球数の軽度から中等度の減少に限定された。

この変化は成人と比較して小児で重篤度が悪化する又は異なって発現するとは考えられなかった。

2.6.6.7 グレカプレビルの局所刺激性試験

グレカプレビルの局所刺激性試験は実施していない。ラットの 2 週間反復投与毒性試験において，600 mg/kg/日で胃に軽微から軽度の好中球の細胞浸潤及び軽微な潰瘍がみられた。同様の変化が同様以上の曝露量がえられた 120 mg/kg/日ではみられなかった（120 mg/kg/日の曝露量は 739 μg•hr/mL；600 mg/kg/日の曝露量は 543 μg•hr/mL）。同様の変化はさらに高曝露状態及び長期のラットの 26 週間反復投与毒性試験（120 mg/kg/日の曝露量は 735 μg•hr/mL）及びイヌの 39 週間反復投与毒性試験（200 mg/kg/日の曝露量は 1440 μg•hr/mL）ではみられなかった。

なお，この胃においてみられた，毒性とは考えらえない変化はラットの高用量（600 mg/kg/日）においてのみみられた。ヒトの体重を 60 kg と仮定するとラットで胃の変化がみられなかった 120 mg/kg/日は 7.2 g，胃の変化のみられた 600 mg/kg/日は 36 g に相当する。この用量はヒトの臨床予定投与量（300 mg）と比較して，かなり高用量である（7.2 g = 24 倍及び 36 g = 120 倍）。

2.6.6.7 ピブレンタスビルの局所刺激性試験

ピブレンタスビルの反復投与毒性試験の結果から，局所刺激性が懸念される毒性所見はみられておらず，ピブレンタスビルの臨床投与経路は経口投与のため，ピブレンタスビルの局所刺激性を実施していない。

2.6.6.8 グレカプレビルのその他の毒性試験

2.6.6.8.1 グレカプレビルの免疫毒性試験

グレカプレビルに関する免疫毒性試験は実施しなかった。ラットの 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，グレカプレ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。

2.6.6.8.2 グレカプレビルの不純物

2.6.6.8.1 グレカプレビルの不純物の特定及び規格設定の試験

濃度 0.10%の 2 種類の不純物（ S* 及び R* ）が，*in silico* 構造活性相関予測モデル（[redacted] 及び [redacted]）を用いた評価において，変異原性の警告構造を有した。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。

S* 及び R* の安全性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（R&D/11/930, 4.2.3.2-GLE-5 項; R&D/11/925, 4.2.3.2-GLE-8 項）。これらの試験における無毒性量は，いずれも高用量であり，ラット及びイヌでそれぞれ 120 及び 200 mg/kg/日であった。ヒト臨床予想投与量（300 mg）との安全域を表 2.6.6-34 に示す。

*新薬承認情報提供時に置き換え

イヌの 13 週間反復投与毒性試験ではグレカプレビルの 3 ロット（07684ZW01，09691ZW01 及び 10693ZW00）を使用した。イヌの試験における計算は，それぞれの不純物の最低レベルを使用した。ラットの 13 週間反復投与毒性試験では 07684ZW01 のみを使用した。

表 2.6.6-34.　グレカプレビルに含まれる不純物（　R*　及び　S*　）の毒性評価

Impurity	Impurity Level in 13-Week Studies (%w/w)[a]		Daily Impurity Dose Level at NOAEL (mg/kg/day)[b]		Human Daily Impurity Dose Level at 0.10% Specification (mg/kg/day)[c]	Safety Margin Dose Level Calculation (X-fold)[d]		Safety Margin Body-Surface-Area Calculation (X-fold)[e]	
	Dog	Rat	Dog	Rat		Dog	Rat	Dog	Rat
R*	0.24	0.51	0.48	0.61	0.0050	96	122	52	20
S*	0.06	0.11	0.12	0.13	0.0050	24	26	13	4

a. For dog, levels based on lowest level of the three lots utilized; for rat, only one lot utilized.
b. 200 (dog) or 120 (rat) mg/kg/day (NOAELs in 13-wk toxicology study) x 0.24 (dog) or 0.51 (rat) %w/w = 0.48 (dog) or 0.61 (rat) mg/kg/day.
c. 300 mg/day maximum daily human dose div 60 kg x 0.10% = 0.008 or 0.0050　mg/kg/day.
d. 0.48 mg/kg/day div. 0.0050 mg/kg/day =　96-fold for dog; 0.61 mg/kg/day div. 0.0050 mg/kg/day = 122-fold for rat.
e. Similar calculation to dose level safety margin, but convert dog or rat dose level safety margin into human equivalent dose by applying a 0.54 (dog) or 0.16 (rat) to human BSA conversion factor = 52-fold for dog or 20-fold for rat.

2.6.6.8.2.2　グレカプレビルの製造過程工程に潜在的に含まれる不純物の復帰突然性試験

グレカプレビルの原薬の製造工程（出発物質，中間物質，溶媒）に潜在的に含まれる不純物について *in silico* 構造活性相関予測モデル（[redacted] 又は [redacted] 及び [redacted] 又は [redacted]）を用いた変異原性の警告構造の評価並びに文献調査を実施した（3.2.S.3.2 項）。変異原性の警告構造を有したが，その後実施した変異原性（以下「Ames」）試験で陰性を示した不純物は遺伝毒性の懸念のない不純物とした。変異原性試験 R&D/11/748（4.2.3.7.6-GLE-15 項)では製造工程の不純物についてネズミチフス菌（TA98 及び TA100）を用いて，R&D/12/942（4.2.3.7.6-GLE-16 項）ではネズミチフス菌（TA98，TA100）及び大腸菌（WP2uvrAPM101）を用いて評価した。その他は，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）を用いた。評価した製造工程の不純物を表 2.6.6-35 に示す。ミニ Ames 試験で陽性を示した場合は，結果が変わることが考えられなかったことから，その後 GLP 試験を実施しなかった。

表 2.6.6-35. グレカプレビルの不純物の評価結果

Impurity[a]	Highest Concentration Tested	Result[b]	Report Number, Conducting Laboratory
V*	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
W* (A-1587901.0)	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
Y*	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
X*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0776 (4.2.3.7.6-GLE-3), AbbVie
Z*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0158 (4.2.3.7.6-GLE-2), AbbVie
AA*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0881 (4.2.3.7.6-GLE-4), AbbVie
AB*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0245 (4.2.3.7.6-GLE-5), AbbVie
AC*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0477 (4.2.3.7.6-GLE-6), AbbVie
AE*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0477 (4.2.3.7.6-GLE-6), AbbVie
AF*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0552 (4.2.3.7.6-GLE-7), AbbVie
AG*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
AH*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
AI*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AJ*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AK*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AL*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AM*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0682 (4.2.3.7.6-GLE-10), AbbVie
AN*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0682 (4.2.3.7.6-GLE-10), AbbVie
AO*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0721 (4.2.3.7.6-GLE-11), AbbVie
AP*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0822 (4.2.3.7.6-GLE-12), AbbVie

表 2.6.6-35. グレカプレビルの不純物の評価結果（続き）

*新薬承認情報提供時に置き換え

Impurity[a]	Highest Concentration Tested	Result[b]	Report Number, Conducting Laboratory
AQ*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0872 (4.2.3.7.6-GLE-13), AbbVie
AR*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0872 (4.2.3.7.6-GLE-13), AbbVie
AS*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/1006 (4.2.3.7.6-GLE-14), AbbVie
F*		Negative	Literature Reference (4.3.4-1)
A*	1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
B*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/14/0416 (4.2.3.7.6-GLE-1), AbbVie
C*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/11/748 (4.2.3.7.6-GLE-15), AbbVie
D*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/14/0416 (4.2.3.7.6-GLE-1), AbbVie
E*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/12/942 (4.2.3.7.6-GLE-16), AbbVie

a. Although the toxicology report title and/or report for some of the impurities notes that the study was conducted for a compound other than either glecaprevir, the impurity evaluated is common to both the other compound and is a potential impurity in glecaprevir drug substance or the manufacturing process of glecaprevir drug substance

b. The Petri plate assay used the pre-incubation method, where the 6-well plate assays used the plate incorporation procedure. R&D/11/748 (4.2.3.7.6-GLE-15) used the plate incorporation assay method and R&D/12/942 (4.2.3.7.6-GLE-16) used both the plate incorporation and Petri assay method. The remainder of the studies utilized the 6-well plate incorporation method.

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（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。なお，不純物は ICH M7 に従って管理する。

2.6.6.8.3 グレカプレビルのその他試験

2.6.6.8.3.1 グレカプレビルの光毒性試験

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なかった。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。一方，グレカプレビルの主な分布器官は肝臓であり，皮膚や眼への分布は少なかった（投与後 24 時間の血漿に対する肝臓，皮膚及び眼の分布率は，それぞれ 48.1，0.7 及び 0.8 であった）。皮膚及び眼への分布が少ないことから，光毒性に対するリスクは低いと考えられた。このことは次に示す光毒性試験によって確認された。*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。

2.6.6.8.3.1.1 グレカプレビルのニュートラルレッド取り込み光毒性試験

（R&D/13/488［4.2.3.7.7-GLE-1 項］，評価資料，GLP 試験）

グレカプレ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。陽性対照として promethazine を用いた。

溶解性評価では，グレカプレビルは pH7.4 の 1%DMSO 添加 D-PBS（+）に 100 mg/L 以上溶解可能であった。用いたグレカプレビル及び promethazine の濃度を表 2.6.6-36 に示す。

表 2.6.6-36. 1% DMSO/DPBS 中の グレカプレビル及び promethazine の濃度 （mg/L，*in vitro* 光毒性試験）

Test Material	Assay Concentrations							
promethazine	0.032	0.100	0.316	1.00	3.16	10.00	31.6	100
glecaprevir free form	0.032	0.100	0.316	1.00	3.16	10.00	31.65	100

細胞には，Schott WG 320 フィルターを使用したキセノンアークソーラーシミュレーターを用いて UVA 及び UVB をそれぞれ 5 J/cm^2 及び 21 mJ/cm^2 で照射した。結果を表 2.6.6-37 に示す。

表 2.6.6-37. グレカプレビルの *in vitro* 光毒性試験の結果

Test Material	IC_{50} (mg/L) -UVR (cytotoxicity)	IC_{50} (mg/L) +UVR (phototoxicity)	Photoirritancy Factor (PIF)	Mean Photo Effect (MPE)	Phototoxic Potential
promethazine	45.21	2.074	21.814	0.364	Phototoxic
glecaprevir	-	9.747	> 10.263	0.240	Phototoxic

IC_{50}: 50% Inhibitory Concentration

+UVR: With exposure to 5 J/cm^2 of UVA and 21 mJ/cm^2 of UVB in the assay

– UVR: Without UVR exposure

>PIF: If a test article is phototoxic, (+UVR) but not cytotoxic (-UVR): the > PIF = C_{max} (-UVR) / IC_{50} (+UVR), any value > 1 predicts phototoxicity.

グレカプレビルは細胞毒性を示さなかったが，PIF（Photo-Irritancy-Factor）及び MPE（Mean Photo Effect）の結果から，光毒性が示された。グレカプレビルの光毒性ポテンシャルが示唆された。

2.6.6.8.3.1.2 グレカプレビルの有色ラットを用いた光毒性試験

（R&D/13/803［4.2.3.7.7-GLE-2 項］，評価資料，GLP 試験）

雌の LE ラットを用いて光毒性試験を実施した。グレカプレビルを 0，10，40 及び 600 mg/kg/日の用量（5 例 / 群）で，1 日 2 回に分け，3 日間反復経口投与し，グレカプレビルの光毒性誘発性を検討した。溶媒として PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を使用した。陽性対照には 8 メトキシソラレン（以下「8-MOP」）を 50 mg/kg/日の用量で UVR 照射日に投与

した（表 2.6.6-38）。最終投与後 1 時間に，10.3 J/cm^2 の UVA 及び 145 mJ/cm^2 の UVB をそれぞれキセノンランプで照射した。UVR 照射後 1 時間及び 4 時間に一般状態及び光毒性評価を行った。観察は投与後 3 日間行った。検査項目は，一般状態，皮膚観察，体重，体重増加量，眼科学検査，トキシコキネティクス及び病理組織学的検査とした。トキシコキネティクス測定用にサテライト群（6 例 / 群）を設定し，血液サンプルを採取した（表 2.6.6-39）。

表 2.6.6-38.　　光毒性試験の試験デザイン

Group	No. of Rats	Descriptor	Total Daily Dose Level (mg/kg/day)[a]	Dose Level (mg/kg/dose)	Concentration (mg/mL)	Dose Volume[b] (mL/kg)	UVA Dose (J/cm^2)	Interval Between Last Dose and UVR Exposure[c] (minutes)
1	5	Control Article	0	0	N/A	6	10 ± 1	60 ± 10
2	5	Glecaprevir	10	5	0.83	6	10 ± 1	60 ± 10
3	5	Glecaprevir	40	20	3.33	6	10 ± 1	60 ± 10
4	5	Glecaprevir	600	300	50	6	10 ± 1	60 ± 10
5	5	Glecaprevir	600	300	50	6	0	N/A[d]
6	3	8-MOP	50	50	5	10	10 ± 1	60 ± 10

N/A: Not applicable

a. Doses were administered twice daily 12 hours ± 15 minutes apart for Groups 1 through 5.

b. Per administration.

c. Interval based on the T_{max} of the test article. The actual exposure time of the group was based on the average dosing time of the group.

d. Sham exposure; rats were sedated and restrained but not exposed to UVR.

表 2.6.6-39.　　トキシコキネティクス群の群構成

Group	No. of Rats[a]	Descriptor	Total Daily Dose Level (mg/kg/day)[b]	Dose Level (mg/kg/dose)	Concentration (mg/mL)	Dose Volume[c] (mL/kg)
7	6	Glecaprevir	10	5	0.83	6
8	6	Glecaprevir	40	20	3.33	6
9	6	Glecaprevir	600	300	50	6

a. Rats assigned to bioanalysis were used for this evaluation only. Data relating to clinical examinations and body weights collected from these rats were retained and only individual values were tabulated.

b. Doses were administered twice daily 12 hours ± 15 minutes apart.

c. Per administration.

600 mg/kg/日まで，皮膚の白色部位及び有色部位において皮膚反応はみられず，眼科学的検査においても著変はみられなかった。8-MOP では UVR 照射後 1 時間から光毒性を示唆する皮膚反応（紅斑，浮腫，皮膚剥離ともにはグレード 1），眼の変化（びまん性の角膜浮腫）がみられた。

UVR 照射群及び UVR 非照射群の 600 mg/kg/日では体重増加量減少がみられた（Day 1–7）。

本試験では死亡例はみられず，一般状態においても著変はみられなかった。

眼組織（眼瞼結膜，角膜，虹彩，毛様体，硝子体，網膜，脈絡膜及び強膜）の病理組織学的検査では光毒性にグレカプレビルに関連した光毒性を示唆する変化はみられなかった。

Day 3 における 10，40 及び 600 mg/kg/日の AUC はそれぞれ，28.7，223 及び 1070 μg•hr/mL であった。

以上，グレカプレビルの 10，40 及び 600 mg/kg/日を LE ラットに 3 日間反復経口投与後，UVR を照射した結果，光毒性を示唆する変化はみられなかった。

2.6.6.8.3.2 グレカプレビルに用いる溶媒のウサギにおける忍容性試験

（R&D/12/557［4.2.3.7.7-GLE-3 項］，参考資料，非 GLP 試験）

グレカプレビルの溶媒をウサギに投与した際の忍容性を確認するために，非妊娠ウサギ（2 例 / 群）PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を 4 日間反復経口投与した。4 日間反復投与の翌日にグレカプレビルの単回投与によるトキシコキネティクスを検討するために，当該溶媒を用いてグレカプレビルの 50 mg/kg/日を，1 回 / 日，又は 2 回 / 日の 2 通りの方法で経口投与した。検査項目は，生死の有無，一般状態，体重，摂餌量及びトキシコキネティクス（Day 5）とした。

死亡例はみられなかった。一般状態，体重及び摂餌量に溶媒又は被験物質に起因する毒性変化はみられなかった。

グレカプレビルのトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-40 に示す。

表 2.6.6-40. グレカプレビルのトキシコキネティクスデータ（ウサギ忍容性試験）

Collection Interval	Glecaprevir Dosage (mg/kg)	
	25 BID	50
	Mean Plasma $AUC_{0\text{-}inf}$ (μg•hr/mL)	
Day 5	1.69 (0.30)	3.09 (1.14)
	Mean Plasma C_{max} (μg/mL)	
Day 5	0.27 (0.13)	0.82 (0.59)

Data presented as Mean (Standard Deviation)

以上，PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124（質量比，70:20:10）を非妊娠ウサギに 4 日間反復経口投与した結果，死亡例はみられず，グレカプレビルのトキシコキネティクスデータは 1 日 1 回投与及び 1 日 2 回投与で大きな差はみられなかった。

2.6.6.8.3.3 グレカプレビル及びピブレンタスビルのラットを用いた4週間反復併用投与毒性試験

(R&D/16/0097 [4.2.3.7.7-GLE-4 項], 参考資料, 非 GLP 試験)

SD ラット (10 例 / 性 / 群) にグレカプレビル / ピブレンタスビルを 0/0 (溶媒対照群), 及び 12.5/20 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与し, グレカプレビル / ピブレンタスビルの併用投与時の毒性を評価した。本試験における投与量は, グレカプレビル / ピブレンタスビル配合剤をヒトに投与した際に得られる曝露量の数倍の曝露量を得られる投与量であった。被験物質はグレカプレビル / ピブレンタスビル配合剤を粉砕し, 0.5% hydroxypropylmethylcellulose 水溶液で調製した。トキシコキネティクス測定用の血液サンプルを Day 1 及び Day 24 に採取した。検査項目は, 一般状態, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 眼科学的検査, 剖検, 器官重量及び病理組織学的検査とした。

本試験において死亡例はみられず, 上記検査項目においてグレカプレビル / ピブレンタスビルに関連した変化は認められなかった。

グレカプレビル / ピブレンタスビルの 12.5/20 mg/kg 日において雌 1 例を Day 7 に安楽死した。この動物では一般状態悪化 (皮膚の浮腫及び円背位) がみられ, 剖検において投与過誤を示唆する食道の穿孔等の所見がみられた。その他で死亡例はみられず, その他の検査項目においても被験物質に関連した変化はみられなかった。

以上, ラットにグレカプレビル / ピブレンタスビルを 12.5/20 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与した結果, 良好な忍容性が示され, 被験物質に起因した変化はみられなかった。この用量の Day 24 におけるグレカプレビル / ピブレンタスビルの C_{max} 及び AUC_{0-24h} は, それぞれ, 5.37/0.282 μg/mL 及び 10.1/2.11 μg•hr/mL であった。

2.6.6.8 ピブレンタスビルその他の毒性試験

2.6.6.8.1 ピブレンタスビルの免疫毒性試験

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。

2.6.6.8.2 ピブレンタスビルの不純物

2.6.6.8.2.1 ピブレンタスビルの不純物の特定及び規格設定の試験

主な毒性試験 (GLP) で使用したピブレンタスビルのロット番号は [redacted] であり, 本ロットは初期の臨床試験で使用された原薬 (ロット番号 [redacted]) から割り当てられた。ロット番号 [redacted] はイヌの 39 週間反復投与毒性試験の後半 4 ヵ月間に使用した。ロット番号 [redacted] はマウスの生殖発生毒性試験 (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, 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) で使用した。

ピブレンタスビルの原薬及びグレカプレビル / ピブレンタスビル配合錠において，ピブレンタスビルの構造に関連し，ICH ガイドラインで定められている閾値を超える不純物が 7 つみられた。

表 2.6.6-41. ピブレンタスビルに含まれる不純物

Impurity	Type	(w/w) %
Pibrentasvir - Unknown C K*	Manufacturing Impurity	NMT 0.25
Pibrentasvir - Unknown B L*	Manufacturing Impurity	NMT 0.50
Pibrentasvir - Unknown J M*	Manufacturing Impurity	NMT 0.50
Pibrentasvir - Unknown G N*	Manufacturing Impurity	NMT 0.35
Pibrentasvir - Unknown H O*	Manufacturing Impurity, Degradation Product	NMT 0.50 NMT 0.80
Pibrentasvir – Unknown M P*	Manufacturing Impurity, Degradation Product	NMT 0.50
Q*	Degradation Product	NMT 0.50

NMT: Not More Than

これらの不純物の構造を特定した（ピブレンタスビルの 3.2.S.3.2 項，グレカプレビル / ピブレンタスビルの 3.2.P.5.5 項）。「Unknown」とされた不純物（例えば，Unknown C）は，毒性試験報告書の COA にも相互関係が認識できるように記載されている。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）。

これらの 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]）を用いた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，この不純物の同様も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。

*新薬承認情報提供時に置き換え

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。 P* 及び Q* を除き，これらの不純物は変異原性誘発能を示さなかったピブレンタスビルの *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。げっ歯類及び非げっ歯類の無毒性量におけるこれらの不純物の曝露量により，ヒトにおけるの不純物の曝露量の安全性は確保されている。

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 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）

ピブレンタスビルのマウス及びイヌの 13，26 又は 39 週の反復投与毒性試験の無毒性量における K* ， L* ， M* ， N* ， O* 及び P* の摂取量と，ヒトにおけるピブレンタスビルの 1 日投与量（120 mg）で摂取される量を比較した。

Q* については，マウスの 4 週間反復投与試験の無毒性量における摂取量と比較した。

K* ， L* ， M* ， N* ， O* ， P* 及び Q* の規格値及びヒトにおけるピブレンタスビルの 1 日投与量（120 mg）において摂取される不純物の安全域を表 2.6.6-42 に示す。

表 2.6.6-42. ピブレンタスビルに含まれる K*, L*, M*, N*, O*, P* 及び Q* の規格値及び安全域

		Animal Daily Intake		Human Daily Intake at NMT [redacted]% for K*, NMT [redacted]% for N*, NMT [redacted]% for L*, M*, P*, Q*, NMT [redacted]% for O*	Safety Margin*	
Study	Impurity	NOAEL mg/kg/day	Tox Lot Impurity Level (%)	120 mg dose	mg/kg Basis	BSA Basis
Mouse 26 Wk	K*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	12	~1
Dog 13, 39 Wk	K*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	12-56	6-30
Mouse 26 Wk	L*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	14	1
Dog 13, 39 Wk	L*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	14-30	8-16
Mouse 26-Wk	M*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	11	0.88
Dog 13 Wk	M*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	11	6
Mouse 26 Wk	N*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	8.6	<1
Dog 13, 39 Wk	N*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	8.6-16	5-9
Mouse 26 Wk	O*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	14	1
Dog 13, 39 Wk	O*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	14-17	8-9
Dog, 39 Wk	P*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	2	1
Mouse, 4 Wk	Q*	100	[redacted]	[redacted] mg/kg/day	17	1.4

* Safety Margin Estimates based on Body-Surface Area (BSA) applying a 0.08 multiplier for mouse and 0.54 for dog when compared to mg/kg basis.

マウス及びイヌの反復投与毒性試験の無毒性量とヒトの 1 日摂取量を比較した場合，これらの不純物の安全域は，体重換算では 2－56 倍，体表面積換算で 1–30 倍であった。なお，ヒトの臨床適用投与期間が 8 又は 12 週間ということを勘案し，計算に使用した無毒性量は 4–39 週間反復投与毒性試験で得られたもの使用した。

反復投与毒性試験で得られた無毒性量との比較及び変異原性の懸念がないことから，ピブレンタスビルに含まれる不純物である K*, L*, M*, N*, O*, P* 及び Q* の安全性は確保されていると考えられる。

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.2.2 不純物を含むピブレンタスビルの CD-1 マウスを用いた 4 週間投与毒性試験

（R&D/16/0640［4.2.3.7.6-PIB-1 項］，評価資料， GLP 試験）

雌雄の CD-1 マウス（10 例 / 性 / 群）にピブレンタスビルを 0 及び 100 mg/kg/日（不純物無）並びに 100 mg/kg/日（不純物有）の用量で 4 週間反復経口投与した。溶媒として Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40（質量比，40:20:20:20）を用いた。被験物質は不純物を含まないピブレンタスビル（ロット番号 [redacted]）及び不純物を含むピブレンタスビル（ロット番号 [redacted]， Q* を 0.17%になるように添加）を用いた。トキシコキネティクス測定用としてサテライト群（4–5 例 / 性 / 群）を設けた。検査項目は，トキシコキネティクス，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。

いずれの投与群においても死亡例はみられず，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，被験物質に関連した変化はみられなかった。Day 28 における投与後 6 時間の血漿中ピブレンタスビル濃度は，雌雄ともに不純物の有無で差はみられなかった。

雌雄マウスに Q* を 0.17%になるように添加したピブレンタスビルを 4 週間反復経口投与した結果，被験物質に起因した変化はみられなかった。

2.6.6.8.2.3 U* の細菌を用いた復帰突然変異試験

（R&D/14/0229［4.2.3.7.6-PIB-2 項］，評価資料， GLP 試験）

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。したがって， U* の復帰突然変異試験（GLP）を実施した。ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）を用いて U* の突然変異誘発性の有無を，Aroclor™ 1254 で誘導したラット肝 S9 による代謝活性化系の存在下又は非存在下でプレート法により評価した。

U* の溶解性，安定性を考慮し，溶媒として Anhydrous acetone を使用した。

U* の 1.5，5.0，15，50，150，500，1500 及び 5000 μg/プレートの濃度範囲でプレート法により代謝活性化系の存在下又は非存在下で実施した。その結果，代謝活性化系の存在下又は非存在下で有意な復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。500 μg/プレート以上において析出がみられた。細胞毒性はみられなかった。

以上の結果から，代謝活性化系の存在下，非存在下に関わらず， U* は遺伝子突然変異を誘発しないものと考えられた。

2.6.6.8.2.4 ピブレンタスビルの製造過程工程に潜在的に含まれる不純物の復帰突然性試験

先述した不純物に加え，ピブレンタスビルの原薬の製造工程（出発物質，中間物質，溶媒）に潜在的に含まれる不純物について *in silico* 構造活性相関予測モデル（[redacted] 及び [redacted]）を用いた変異原性の警告構造の評価並びに文献調査を実施した。変異原性の警告構造を有したが，その後実施した変異原性試験（Ames 試験）で陰性を示した不純物は遺伝毒性の懸念のない不純物とした。変異原性又は潜在的変異原性不純物は，原薬製造の上流プロセスのおける許容限度値によって，又は，工程条件の許容値を下げる等，製造工程の理解や分析により管理する。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（ピブレンタスビルの 3.2.S.2.6 項，3.2.S.4.1 項及び 3.2.S.4.5 項）。評価した製造工程の不純物を表 2.6.6-43 に示す。

表 2.6.6-43. ピブレンタスビルの不純物の評価結果

Impurity	Test[a] (GLP Status)	Bacterial Strains	Highest Tested Concentration	Result	Report No., Conducting Laboratory
G*	Mini Ames (non-GLP)	TA98, TA100	180 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/11/492 (4.2.3.7.6-PIB-3), Abbott
H*	Mini Ames (non-GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/14/0045 (4.2.3.7.6-PIB-4), AbbVie
AT*	Petri plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrA	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
AU*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/14/1294 (4.2.3.7.6-PIB-5), AbbVie
AV*, J*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	28 µg/well, +/- S9, 1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/14/1294 (4.2.3.7.6-PIB-5), AbbVie
AW*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0081 (4.2.3.7.6-PIB-6), AbbVie
AX*	6-well bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0423 (4.2.3.7.6-PIB-7), AbbVie
AY*, AZ*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0497 (4.2.3.7.6-PIB-8), AbbVie
BA*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0602 (4.2.3.7.6-PIB-9), AbbVie
BP*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0879 (4.2.3.7.6-PIB-10), AbbVie

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-43. ピブレンタスビルの不純物の評価結果（続き）

Impurity	Test[a] (GLP Status)	Bacterial Strains	Highest Tested Concentration	Result	Report No., Conducting Laboratory
BB*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/1234 (4.2.3.7.6-PIB-11), AbbVie
BC*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0165 (4.2.3.7.6-PIB-16), AbbVie
BD*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0344 (4.2.3.7.6-PIB-12), AbbVie
BE*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0366 (4.2.3.7.6-PIB-13), AbbVie
BG* , BH*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0736 (4.2.3.7.6-PIB-14), AbbVie
BI* , BJ*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/1095 (4.2.3.7.6-PIB-15), AbbVie

a. The Petri plate assay used the pre-incubation method, where the 6-well plate assays (both GLP and non-GLP) used the plate incorporation procedure.

b. Although the toxicology report title and/or report for these impurities notes that the study was conducted for a compound other than pibrentasvir, the impurity evaluated is also a potential impurity in pibrentasvir drug substance or the manufacturing process of pibrentasvir drug substance.

2.6.6.8.3 ピブレンタスビルのその他の試験

2.6.6.8.3.1 ピブレンタスビルのニュートラルレッド取り込み光毒性試験

（R&D/13/656［4.2.3.7.7-PIB-1 項］，評価資料，GLP 試験）

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。陽性対照として Promethazine を用いた。

溶解性評価では，ピブレンタスビルは pH7.0–7.3 の 1%DMSO 添加 D-PBS（+）に 3 mg/L 溶解可能であった。用いたピブレンタスビル及び promethazine の濃度を表 2.6.6-44 に示す。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-44. 1% DMSO/DPBS 中のピブレンタスビル及び promethazine の濃度（mg/L，*in vitro* 光毒性試験）

Test Material	Assay Concentrations (mg/L)							
Promethazine	0.032	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100
Pibrentasvir free form	0.00095	0.0030	0.0095	0.030	0.095	0.30	0.95	3

細胞には，Schott WG 320 フィルターを使用したキセノンアークソーラーシミュレーターを用いて UVA 及び UVB をそれぞれ 5 J/cm^2 及び 21–22 mJ/cm^2 で照射した。結果を表 2.6.6-45 に示す。

表 2.6.6-45. ピブレンタスビルの *in vitro* 光毒性試験の結果

	Assay Results				
	IC_{50} (mg/L) -UVR (cytotoxicity)	IC_{50} (mg/L) +UVR (phototoxicity)	Photoirritancy Factor (PIF)	Mean Photo Effect (MPE)	Phototoxic Potential
Promethazine	56.15	1.302	43.383	0.430	Phototoxic
Pibrentasvir free form	-	-	*1	0.000	Non Phototoxic

IC_{50}: 50% Inhibitory Concentration

+UVR: with exposure to 5 J/cm^2 of UVA and 21-22 mJ/cm^2 of UVB in the assay.

– UVR: without UVR exposure.

*1: Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated, this indicated a lack of phototoxic potential.

ピブレンタスビルは細胞毒性を示さず，PIF（Photo-Irritancy-Factor）及び MPE（Mean Photo Effect）の結果から，光毒性が示されなかった。

2.6.6.8.3.2 ピブレンタスビルに用いる溶媒のウサギにおける忍容性試験

（R&D/13/309［4.2.3.7.7-PIB-2 項］，参考資料，非 GLP 試験）

ピブレンタスビルの溶媒をウサギに投与した際の忍容性を確認するために，非妊娠ウサギ（3 例 / 群）PEG-300: D5W: Tween80（質量比，89.5:10:0.5）を 1 mL/kg/日の投与容量で 10 日間反復静脈内投与した。静脈投与は 15 分間かけて行った。検査項目は，生死の有無，一般状態，体重及び摂餌量とした。

死亡例はみられなかった。一般状態でみられた所見は，耳介の浮腫及び痂皮であった。これらの所見は Day 6 から Day 10 にみられた。体重及び摂餌量に溶媒に起因する毒性変化はみられなかった。

以上，PEG-300: D5W: Tween80（質量比，89.5:10:0.5）を非妊娠ウサギに 10 日間反復静脈内投与した結果，耳介に浮腫及び痂皮がみられた。PEG-300: D5W: Tween80（質量比，89.5:10:0.5）はウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験に使用する溶媒として忍容性を示すと考えられた。

2.6.6.9 グレカプレビルの考察及び結論

トキシコキネティクスのプロファイルを用いて，ラット，イヌ及びマウスの曝露量を最大化し，ウサギの忍容性が良好な溶媒を検討した。投与容量をイヌでは 1 mL/kg，ラットでは 2 mL/kg に設定し，3 種類の脂質系の溶媒（PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124 ; PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124+ 1 eq NaOH ; Phosal 50PG:Soluphor P:Cremophor RH40+ 1 eq NaOH at 2 mL/kg）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。ウサギにおいても忍容性を考慮し，胚・胎児発生に関する試験では別の溶媒 （Ethanol:PEG-400:Phosal 53 MCT）を使用した。

グレカプレビルの主要な毒性評価は，ラットの 26 週間及びイヌの 39 週間反復投与毒性試験で行った。毒性変化は投与可能な最大用量における曝露量（ラットの 26 週間反復投与毒性試験では 735 μg•hr/mL，イヌの 39 週間反復投与毒性試験では 1440 μg•hr/mL）においてみられなかった。無毒性量における曝露量と安全域を後述する表に示す。また，将来がん原性試験を実施する可能性を考慮し，野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスの反復投与毒性試験を実施した。マウスの 4 週間反復投与毒性試験では最大曝露量が得られたが（737 μg•hr/mL），毒性変化はみられなかった。

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（≥ 16 μg•hr/mL，≥ 20 mg/kg/日）。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。この変化は，イヌの 2 週間（961 μg•hr/mL）及び 13 週間反復投与毒性試験（765 μg•hr/mL）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）。

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。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。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物及び胎児の無毒性量は，ともに投与可能な最大用量で得られ，その際の母動物の全身曝露量は 559 μg•hr/mL であった。胎児：母動物の曝露比は 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。

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 であったが，ウサギの胚・胎児発生に関する試験では，重篤な母体毒性が発現したため，薬理作用が発現する曝露量に到達しなかった。しかし，ヒトと比較した際の安全域が 18 倍以上であること，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ことから，グレカプレビルの生殖発生毒性誘発能の懸念は低いと考えられた。胎児の変異，奇形を含む発達毒性に関する変化は，ラットを用いた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みられず，グレカプレビルの安全性を示唆した。

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（4.3.4-2 項）。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），この曝露量において生殖発生毒性はみられなかった。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れた。

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（4.3.4-3 項）。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験及びラットを用いた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は大きい安全域（18 倍以上）はグレカプレビルの毒性リスクが低いことを示唆している。

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，ウサギよりもげっ歯類を用いた方が，予測性が高いことが報告されている（4.3.4-4 項）。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。（4.3.4-5 項）。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）でも生殖器官に影響はみられなかった。

要約すると，グレカプレビルは次の説明に基づき，胚・胎児発生に関するリスクは低いと考えられる：

a. 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ていない
b. 公表文献より，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である
c. 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。

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なかった。不安定の 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。一方，グレカプレビルの主な分布器官は肝臓であり，皮膚や眼への分布は少なかった（投与後 24 時間の血漿に対する肝臓，皮膚及び眼の分布率は，それぞれ 48.1，0.7 及び 0.8 であった）。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 ガイドラインに従うと，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。

グレカプレビルは *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陰性を示した。変異原性の警告構造がみられた不純物が存在したが，適切なレベルに管理されている。

表 2.6.6-46. グレカプレビルの主要な毒性試験及び安全域

Study Type	Species	NOAEL (μg•hr/mL)	Projected Safety Margin[a] (Fold Margin)	Adverse Findings
13-week	Rat	580[b]	50/19	None
13-week	Dog	765[b]	60/25	None
6-month	Rat	735[b]	63/24	None
9-month	Dog	1440[b]	124/47	None
Fertility	Rat	657[b]	124/47	None
Embryo-fetal development	Rat	559[b]	48/18	None
Embryo-fetal development[c]	Rabbit	0.4[d]	0.03/0.01[d]	Maternal toxicity, postimplantation loss, ↓ fetal body weight
Embryo-fetal development	Rabbit	0.7	0.06/0.02	None
Peri/post-natal development	Rat	492	42/16	None

NOAEL = no-observed-adverse-effect level
a. Projected clinical exposures are 11.6 and 30.4 μg•hr/mL for patients without and with cirrhosis, respectively. The margin for patients without cirrhosis is listed first. Exposures are based off a 300 mg QD dose of glecaprevir when coadministered with pibrentasvir 120 mg QD (2.7.2).
b. Maximum feasible exposures.
c. GLP range-finding study.
d. 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).

グレカプレビル及びピブレンタスビルのそれぞれに安全性に懸念となる変化がみられず，重複する毒性がみられなかったことから，2 剤による併用投与毒性試験を計画していなかった。しかし，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。その結果，毒性変化はみられなかった。

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，比較的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）。

2.6.6.9 ピブレンタスビルの考察及び結論

ピブレンタスビルは，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 ASD（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，the 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投与可能な最大用量の検討については Drug Metabolism Memo（No. 10）に示す（4.2.2.4-1 項）。

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 2.6.6-47 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。

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，子宮パラメータにおいて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（$AUC_{0-\infty}$）を得ることができなかった（2.6.5.3c 項）。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（R&D/13/1113，4.2.2.2-11 項）。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。PEG-300: D5W: Polysorbate 80 を溶媒として用いて 15 分間をかけてピブレンタスビルの最大 10 mg/kg/日（全身曝露が飽和する投与量）を妊娠ウサギに投与した結果，対照群も含め全群に溶媒に起因すると考えられる母体毒性がみ

られたため，妊娠 23 日又は 24 日に試験を中止した。そのため，胎児の評価を実施しなかった。なお，妊娠 19 日における 10 mg/kg/日の母動物におけるピブレンタスビルの曝露量（AUC_{0-24h}）は 21.2 μg•hr/mL であった。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。（表 2.6.6-47）。これらの，投与可能な最大用量を用いてげっ歯類及び非げっ歯類において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_{0-24h}）はマウスよりも低かったが，肝硬変患者及び非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）と同程度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

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。

ピブレンタスビルは 290–320 nm で光を吸収し（ピブレンタスビルの 3.2.S.3.1 項，図 15），UV－可視光領域で不安定であった（ピブレンタスビルの 3.2.S.7.1 項）。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 $mol^{-1}cm^{-1}$ であった（ピブレンタスビルの 3.2.S.3.1 項，表 4）。[^{14}C]ピブレンタスビルを使用し，ピブレンタスビルの全身への分布（全身オートラジオグラフィー）を有色ラットで評価した結果，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。（ピブレンタスビルの 2.6.5.5 項）。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，ヒトに対する光毒性の懸念は低いと考えられた。

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。

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 又は 12 週間）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。

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。

不純物は *in silico* 解析，その後の遺伝毒性試験及び不純物を添加した反復投与毒性試験によりヒトへの安全性を評価し，規格を設定した。

グレカプレビル / ピブレンタスビルの併用投与によるラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験を実施した結果，著変はみられなかった。その際のピブレンタスビルの全身曝露量は，ヒトの曝露量と比較すると同程度あった。

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（表 2.6.6-47）。ピブレンタスビルの毒性評価は適切に実施された。ピブレンタスビルの 1 日用量である 120 mg/日を慢性 HCV 感染患者に併用投与（8 又は 12 週間）する場合，ピブレンタスビルがヒトに対して毒性を示す懸念は低いと考えられた。

ピブレンタスビルの主要な毒性試験と安全域を表 2.6.6-47 に示す。

表 2.6.6-47. ピブレンタスビルの主要な毒性試験及び安全域

Study Type	Species	NOAEL (µg•hr/mL)[a]	Projected Safety Margin[b]	Adverse Findings
Pibrentasvir				
13-week	Mouse	127	45	None
13-week	Rat	10 (M), 5.6 (F)	4 (M), 2 (F)	None
13-week	Dog	32	11	None
26-week	Mouse	123	43	None
39-week	Dog	25	9	None
Embryo-fetal development	Mouse	73	26	None
Embryo-fetal development	Rabbit	2	1	None
Fertility	Mouse	153 (M), 141 (F)	54 (M), 50 (F)[c]	None
Peri/post-natal development	Mouse	107	38	None

NOAEL = No-Observed-Adverse-Effect Level; M = male; F = female

a. Maximum feasible exposures.

b. Projected 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 dose when coadministered with glecaprevir 300 mg QD (2.7.2).

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

2.6.6.10 グレカプレビルの図表

表は文中に記載。図はなし。

2.6.6.10 ピブレンタスビル図表

表は文中に記載。図はなし。

2.6.6.11 グレカプレビルの参考文献

なし。

2.6.6.11 ピブレンタスビルの参考文献

なし。

2.6.7 毒性試験概要表

目次

2.6.7 毒性試験概要表 1
2.6.7.1 グレカプレビルの毒性試験：一覧表 6
2.6.7.1 ピブレンタスビルの毒性試験：一覧表 10
2.6.7.2 グレカプレビルのトキシコキネティクス試験一覧 15
2.6.7.2 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス試験一覧 17
2.6.7.3 グレカプレビルのトキシコキネティクス 19
2.6.7.3.1 グレカプレビルのトキシコキネティクス　血漿中グレカプレビル濃度 20
2.6.7.3 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス 22
2.6.7.3.1 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス　血漿中ピブレンタスビル濃度 23
2.6.7.4 グレカプレビルの毒性試験－被験物質一覧 25
2.6.7.4 ピブレンタスビルの毒性試験－被験物質一覧 27
2.6.7.5 グレカプレビルの単回投与毒性試験－単回投与毒性試験実施せず 30
2.6.7.5 ピブレンタスビルの単回投与毒性試験 31
2.6.7.6 グレカプレビルの反復投与毒性試験－主要な試験以外の試験 32
2.6.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－主要な試験以外の試験 33
2.6.7.7 グレカプレビルの反復投与毒性試験 34
2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Four Week Oral Toxicity Study of A-1282576 Free Form in CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non Transgenic Littermates) Mice 34
2.6.7.7.2 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral Toxicity Study of A-1282576 Free Acid in Sprague Dawley Rats with a Four Week Recovery Period 39
2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：A-1282576 Free Form:　A 26 Week BID Oral Dose Toxicity Study in Sprague Dawley Rats (Crl:SD) with a 4 Week Recovery Period 43
2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1282576 in Beagle Dogs (With a Four Week Recovery Period) 48
2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：A-1282576: A 39 Week BID Oral Dose Toxicity Study in Beagle Dogs with an 8 Week Recovery Period 53
2.6.7.7 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験 58

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Four Week Oral Toxicity Study of A-1325912 in CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non Transgenic Littermates) Mice 58
2.6.7.7.2 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral Toxicity Study of A-1325912 in CD-1 Mice with a Four Week Recovery Period 63
2.6.7.7.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：A-1325912 Free Form: A 26 Week Oral Toxicity Study with an 8 Week Recovery Period in Mice 66
2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral Dose Toxicity Study of A-1325912 Free Form in Sprague Dawley Rats 70
2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1325912 in Beagle Dogs with a Four Week Recovery Period 75
2.6.7.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirty-Nine Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1325912 Free Form in Beagle Dogs with an Eight Week Recovery Period 80
2.6.7.8 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験 84
2.6.7.8.1 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay with A-1282576 Free Form 84
2.6.7.8.2 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Mouse Lymphoma Assay No Studies Conducted 87
2.6.7.8.3 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test with A-1282576 Free Form 88
2.6.7.8 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験 90
2.6.7.8.1 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Salmonella E. Coli/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay 90
2.6.7.8.2 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vitro Chromosome Aberration Test in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes 93
2.6.7.9 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験 95
2.6.7.9.1 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Unscheduled DNA Synthesis No Studies Conducted 95
2.6.7.9.2 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vivo Micronucleus Assay in Rats with A-1282576 Free Form 96
2.6.7.9 ピブレンタスビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験 97

2.6.7.9.1 ピブレンタスビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vivo Mouse Bone Marrow Micronucleus Assay with A-1325912 Free Form 97
2.6.7.10 グレカプレビルのがん原性試験－No Studies Conducted 99
2.6.7.10 ピブレンタスビルのがん原性試験－No Studies Conducted 99
2.6.7.11 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験－No Studies Conducted 99
2.6.7.11 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験 100
2.6.7.12 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 102
2.6.7.12.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Fertility Study with A-1282576 in Rats 102
2.6.7.12 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 107
2.6.7.12.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Fertility Study with A-1282576 in Rats 107
2.6.7.13 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名 112
2.6.7.13.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rats with a Toxicokinetic Evaluation 112
2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Developmental Toxicity Study in Rats, Including a Toxicokinetic Evaluation 113
2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation 122
2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation 130
2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation 140
2.6.7.13 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名 148

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：A Dose Range Finding Embryo Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Mice 148
2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Embryo Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Mice 154
2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Embryo-Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Rabbits 161
2.6.7.14 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－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 168
2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－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－報告書の題名：A Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Study of A-1282576 by Oral (Gavage) in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation 168
2.6.7.14 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－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 174
2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－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－報告書の題名：A Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Study of A-1325912 Free Form by Oral (Gavage) in Mice, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation 174
2.6.7.15 グレカプレビルの新生児を用いた試験－No Studies Conducted 181
2.6.7.15 ピブレンタスビルの新生児を用いた試験－No Studies Conducted 181
2.6.7.16 グレカプレビルの局所刺激性試験－No Studies Conducted 181
2.6.7.16 ピブレンタスビルの局所刺激性試験－No Studies Conducted 181
2.6.7.17 グレカプレビルのその他の毒性試験 182
2.6.7.17.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Impurities－Ames Assays 182
2.6.7.17.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other 184
2.6.7.17.2.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of A-1282576 Free Form in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts 184
2.6.7.17.2.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：A Repeat Dose Phototoxicity Study to Determine the Effects of Oral (Gavage) Administration of A-1282576 Free Form on Eyes and Skin in Pigmented Rats 186

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Four Week Oral Gavage Toxicity Study of A-1282576 and A-1325912 (Free Form) in Sprague Dawley Rats 190
2.6.7.17 ピブレンタスビルのその他の毒性試験 195
2.6.7.17.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities 195
2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書の題名：Four-Week Oral Dose Toxicity Study of A-1325912 Free Form (with Impurity) in CD-1 Mice 195
2.6.7.17.1.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay with U* Free Form 200
2.6.7.17.1.3 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities Bacterial Mutation Assays for Potential and Actual Manufacturing Impurities 203
2.6.7.17.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other 205
2.6.7.17.2.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of A-1325912 Free Form in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts 205
2.6.7.17.2.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：10 Day Vehicle Tolerability Study of PEG-300:D5W:Tween80 (89.5:10:0.5, v/v/v) in Rabbits 207

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 グレカプレビルの毒性試験：一覧表

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Single Dose Toxicity	-	-	-	-	-	-	-
Repeat-Dose Toxicity	Mouse Tg(HRAS)2Jic Wild type (Non-Transgenic Littermates)	Oral (gavage)	7 days	0, 150, 300, 600, 800	No	AbbVie	R&D/13/602 (4.2.3.2-GLE-1)
	Mouse Tg(HRAS)2Jic Wild type (Non-Transgenic Littermates)	Oral (gavage)	7 days	0, 100, 200, 300	No	AbbVie	R&D/13/348 (4.2.3.2-GLE-2)
	Mouse Tg(HRAS)2Jic Wild type (Non-Transgenic Littermates)	Oral (gavage)	4 weeks	0, 40, 125, 300	Yes	AbbVie	R&D/13/682 (4.2.3.2-GLE-3)
	Rat, Sprague-Dawley	Oral (gavage)	2 weeks	0, 40, 120[b], 600[b]	No	Abbott	R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4)
	Rat, Sprague-Dawley	Oral (gavage)	13 weeks	0, 10, 40, 120	Yes	Abbott	R&D/11/930 (4.2.3.2-GLE-5)
	Rat, Sprague-Dawley	Oral (gavage)	26 weeks	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/14/0001 (4.2.3.2-GLE-6)
	Dog, Beagle	Oral (capsule)	2 weeks	0, 40, 100, 200	No	Abbott	R&D/11/535 (4.2.3.2-GLE-7)
	Dog, Beagle	Oral (capsule)	13 weeks	0, 20, 60, 200	Yes	Abbott	R&D/11/925 (4.2.3.2-GLE-8)
	Dog Beagle	Oral (capsule)	39 weeks	0, 20, 50, 200	Yes	[redacted]	R&D/14/0002 (4.2.3.2-GLE-9)

2.6.7.1 グレカプレビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Genotoxicity							
Bacterial Reverse Mutation Test	S. typhimurium and E. coli	In vitro	NA[a]	15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	R&D/12/270 (4.2.3.3.1-GLE-1)
Chromosome Aberration Test	Human Lymphocytes	In vitro	4 hours, 20 hours 4 hours	150, 200, 256, 20, 40, 60 µg/mL 100, 150, 185 µg/mL	Yes	[redacted]	R&D/12/271 (4.2.3.3.1-GLE-2)
Micronucleus Test	Rat, Sprague-Dawley	Oral (gavage)	1 day	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	R&D/13/002 (4.2.3.3.2-GLE-1)
Carcinogenicity	-	-	-	-	-	-	-
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility	Rat CD®[Crl:CD®(SD)]	Oral (gavage)	14 days prior to pairing to GD7 (F) or study termination (M)	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/14/0683 (4.2.3.5.1-GLE-1)
Embryo-fetal Toxicity	Rat Sprague-Dawley (Range-finding)	Oral (gavage)	GD 6 through GD 18	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/12/943 (4.2.3.5.2-GLE-1)
	Rat Sprague-Dawley (Definitive)	Oral (gavage)	GD 6 through GD 18	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/13/913 (4.2.3.5.2-GLE-2)
	Rabbit New Zealand White (Range-finding)	Oral (gavage)	GD 7 through GD 19	0, 50, 300	Yes	[redacted]	R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3)

2.6.7.1 グレカプレビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Embryo-fetal Toxicity (Cont.)	Rabbit New Zealand White (Range-finding)	Oral (gavage)	GD 7 through GD 19	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted]	R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)
	Rabbit New Zealand White (Definitive)	Oral (gavage)	GD 7 through GD 19	0, 20, 60	Yes	[redacted]	R&D/13/679 (4.2.3.5.2-GLE-5)
Prenatal and Postnatal Development	Rat Sprague-Dawley	Oral (gavage)	GD 6 through LD 20 or GD 24	0, 10, 40, 120	Yes	[redacted]	R&D/16/0239 (4.2.3.5.3-GLE-1)
Local Tolerance	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.1 グレカプレビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Other Toxicity Studies							
In Vitro Phototoxicity	Balb/c 3T3 fibroblasts	In vitro	NA	0.032, 0.100, 0.316, 1.00, 3.16, 10.00, 31.65, 100 µg/mL (1.5 hours and 30 minutes treatment)	Yes	[redacted]	R&D/13/488 (4.2.3.7.7-GLE-1)
In Vivo Phototoxicity	Rat Crl:LE (Long-Evans), female	Oral (gavage)	3 days	0, 10, 40, 600	Yes	[redacted]	R&D/13/803 (4.2.3.7.7-GLE-2)
Vehicle Tolerability	Rabbit New Zealand White	Oral gavage	Vehicle: 4 days Test item in vehicle: 1 day (Day 5 of the study)	Group 1: 50 mg/kg/day QD Group 2: 25 mg/kg/day BID	No	AbbVie	R&D/12/557 (4.2.3.7.7-GLE-3)
Combination Safety	Rat Sprague-Dawley	Oral (gavage)	4 weeks	0, 12.5/20 [c]	Yes	AbbVie	R&D/16/0097 (4.2.3.7.7-GLE-4)

[a] The total daily dose is listed – doses from some studies were divided BID. The highest No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) or the highest dose with no adverse findings, under the conditions of the study, is underlined. All GLP studies with the exception of R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3) identified a NOAEL.

[b] For R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4), 600 mg/kg/day was considered to be the NOAEL from a dose standpoint, 120 mg/kg/day was considered the NOAEL from an exposure (AUC) standpoint.

[c] R&D/16/0097 (4.2.3.7.7-GLE-4) is a combination study with pibrentasvir and the dose refers to glecaprevir/pibrentasvir dose; while this study was not intended to identify a NOAEL, no adverse effects were noted.

2.6.7.1 ピブレンタスビルの毒性試験：一覧表

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Single-Dose Toxicity	Rabbit New Zealand White	Intravenous infusion (15 minutes)	1 day	5, 50	No	AbbVie	R&D/13/029 (4.2.3.1-PIB-1)
Repeat-Dose Toxicity	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates)	Oral gavage	7 days	0, 30, 100, 300	No	AbbVie	R&D/13/432 (4.2.3.2-PIB-1)
	Mouse, CD-1	Oral gavage	14-15 days	0, 10, 30, 300	No	Abbott	R&D/11/840 (4.2.3.2-PIB-2)
	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates	Oral Gavage	28 or 29 days	0, 3, 10, 100	Yes	AbbVie	R&D/13/666 (4.2.3.2-PIB-3)
	Mouse, CD-1 crl: [CD® (SD)]	Oral gavage	91-92 days	0, 3, 10, 100	Yes	Abbott	R&D/12/138 (4.2.3.2-PIB-4)
	Mouse Crl:CD1® (ICR)	Oral gavage	182 days	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/13/434 (4.2.3.2-PIB-5)
	Rat Sprague-Dawley	Dietary	21 days	0, 30, 100	No	AbbVie	R&D/13/340 (4.2.3.2-PIB-6)

2.6.7.1 ピブレンタスビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Repeat-Dose Toxicity (Cont.)	Rat Sprague-Dawley	Oral gavage	91 to 92 days	0, 3, 10, 30	Yes	AbbVie	R&D/13/600 (4.2.3.2-PIB-7)
	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	14 days	0, 10, 30, 300	No	Abbott	R&D/11/928 (4.2.3.2-PIB-8)
	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	13 weeks	0, 3, 10, 100	Yes	AbbVie	R&D/12/345 (4.2.3.2-PIB-9)
	Dog Purebred Beagle	Oral capsule	280-282 days	0, 3, 10, 100	Yes	AbbVie	R&D/13/172 (4.2.3.2-PIB-10)
Genotoxicity	S. typhimurium and E. coli	In Vitro	NA	25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	R&D/12/269 (4.2.3.3.1-PIB-1)
	Human peripheral blood lymphocytes (HPBL)	In Vitro	NA	7.81, 125, 250 µg/mL Continuous treatment for 22-h without S9; 15.6, 125, 250 µg/mL, pulse treatment for 3-h with and without S9. All cultures harvested at 22-h	Yes	[redacted]	R&D/12/265 (4.2.3.3.1-PIB-2)
Micronucleus	Mouse, CD®-1	In Vivo	1 day	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	R&D/13/014 (4.2.3.3.2-PIB-1)
Carcinogenicity	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.1 ピブレンタスビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility and Early Embryonic Development	Mouse Crl:CD1 (ICR)	Oral gavage	**M:** 14 days prior to mating through euthanasia **F:** 14 days prior to mating through GD 6 [b]	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/14/0682 (4.2.3.5.1-PIB-1)
Embryo-fetal toxicity DRF (Dose range-finding)	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD 6 through GD 15	0, 3, 10, 100 [c]	Yes	[redacted]	R&D/13/253 (4.2.3.5.2-PIB-1)
Embryo-fetal toxicity	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD 6 through GD 15	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/13/950 (4.2.3.5.2-PIB-2)
Embryo-fetal toxicity DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Oral Gavage	GD 7 through GD 19	0, 10, 100	No	[redacted]	R&D/13/958 (4.2.3.5.2-PIB-3)
Embryo-fetal toxicity	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Oral gavage	GD 7 through GD 19 for Main Study and GD 7 through GD 20 for TK	0, 10, 100 [d]	Yes	[redacted]	R&D/13/638 (4.2.3.5.2-PIB-4)
DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF) (non-pregnant)	Intravenous infusion (15 minutes)	10 days	0, 2.5, 5, 10	No	[redacted]	R&D/13/248 (4.2.3.5.2-PIB-5)
Embryo-fetal toxicity DRF	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Intravenous infusion (15 minutes)	GD 7 through GD 19 for Main Study and GD 7 through GD 20 for TK	0, 2, 5, 10 [c]	No	[redacted]	R&D/13/321 (4.2.3.5.2-PIB-6)

2.6.7.1 ピブレンタスビルの毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number (CTD Location)
Peri/post-natal developmental toxicity	Mouse Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	GD6-LD20	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted]	R&D/15/0822 (4.2.3.5.3-PIB-1)
Local Tolerance	-	-	-	-	-	-	-
Other Toxicity Studies Impurities							
Q* (amine degradation product)	Mouse Crl:CD-1(SD)	Oral gavage	28-29 days	0, 100[f]	Yes	AbbVie	R&D/16/0640 (4.2.3.7.6-PIB-1)
U* (isocyanate degradation product)	S. typhimurium and E. coli	In Vitro	NA	0, 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate, +/- S9	Yes	[redacted]	R&D/14/0229 (4.2.3.7.6-PIB-2)
Other							
Phototoxicity	Mouse Fibroblasts	In Vitro	NA	0.00095, 0.0030, 0.0095, 0.030, 0.095, 0.30, 0.95, 3 µg/mL	Yes	[redacted]	R&D/13/656 (4.2.3.7.7-PIB-1)
Vehicle – repeat intravenous dose tolerability	Rabbit New Zealand White	Intravenous Infusion (PEG 300, D5W, and Tween80)	10 Consecutive Days	NA	No	AbbVie	R&D/13/309 (4.2.3.7.7-PIB-2)

a. For Repeat-Dose Toxicity, the highest No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) is underlined. NOAELs were not determined for some non-GLP and GLP range-finding studies.

b. Male mice were dosed for 34 to 36 doses prior to cohabitation, through cohabitation, and continuing through one day prior to scheduled euthanasia. Female mice were dosed for 22 to 30 doses prior to cohabitation, through cohabitation, and continuing through Gestation Day 6.

c. An NOAEL was not determined in this study. There was no apparent pibrentasvir-related maternal or embryo-fetal toxicity up to the highest dose tested (100 mg/kg/day).

d. 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.

*新薬承認情報提供時に置き換え

e. Due to early study termination (GD 23, 24) and resultant early gestational age, the limited fetal examinations were not considered to be a valid assessment of embryo-fetal development.

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

g. Dosage is 12.5/20 mg/kg/day for glecaprevir/pibrentasvir.

NA = not applicable; - = study not conducted.

2.6.7.2 グレカプレビルのトキシコキネティクス試験一覧

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report/CTD Number
Repeat Dose Toxicity[a]	Mouse, TgHras WT	Oral gavage	0, 150, 300, 600, 800	No	R&D/13/602 (4.2.3.2-GLE-1)
Repeat Dose Toxicity[a]	Mouse, TgHras WT	Oral gavage	0, 100, 200, 300	No	R&D/13/348 (4.2.3.2-GLE-2)
Repeat Dose Toxicity[b]	Mouse, TgHras WT	Oral gavage	0, 40, 125, 300	Yes	R&D/13/682 (4.2.3.2-GLE-3)
Repeat Dose Toxicity[c]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 40, 120, 600	No	R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4)
Repeat Dose Toxicity[d]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 40, 120	Yes	R&D/11/930 (4.2.3.2-GLE-5)
Repeat Dose Toxicity[e]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 40, 120	Yes	R&D/14/0001 (4.2.3.2-GLE-6)
Repeat Dose Toxicity[f]	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 40, 100, 200	No	R&D/11/535 (4.2.3.2-GLE-7)
Repeat Dose Toxicity[a]	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	R&D/11/925 (4.2.3.2-GLE-8)
Repeat Dose Toxicity[b]	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 20, 50, 200	Yes	R&D/14/0002 (4.2.3.2-GLE-9)
Embryo-Fetal Toxicity[c]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 40, 120	Yes	R&D/12/943 (4.2.3.5.2-GLE-1)
Embryo-Fetal Toxicity[d]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 40, 120	Yes	R&D/13/913 (4.2.3.5.2-GLE-2)
Embro-Fetal Toxicity[e]	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 50, 300	Yes	R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3)

2.6.7.2 グレカプレビルのトキシコキネティクス試験一覧（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report/CTD Number
Embryo-Fetal Toxicity[f]	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 30, 100, 300	Yes	R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)
Embryo-Fetal Toxicity[g]	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 20, 60	Yes	R&D/13/679 (4.2.3.5.2-GLE-5)
Peri/postnatal Development[h]	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 40, 120	Yes	R&D/16/0239 (4.2.3.5.3-GLE-1)

a. 1-wk non-GLP; Day 7
b. 4-wk GLP; Day 28
c. 2-wk non-GLP; Day 14
d. 13-wk GLP; Day 91
e. 26-wk GLP; Day 181
f. 2-wk non-GLP; Day 14
[a] 13-wk GLP; Day 91
[b] 39-wk GLP; Day 273
[c] EFD DRF GLP GD 17
[d] EFD GLP GD 17
[e] EFD DRF GLP; GD 7 and 17/18
[f] EFD DRF GLP; GD 7
[g] EFD GLP; GD 18
[h] PPND GLP; PND 14

2.6.7.2 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス試験一覧

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

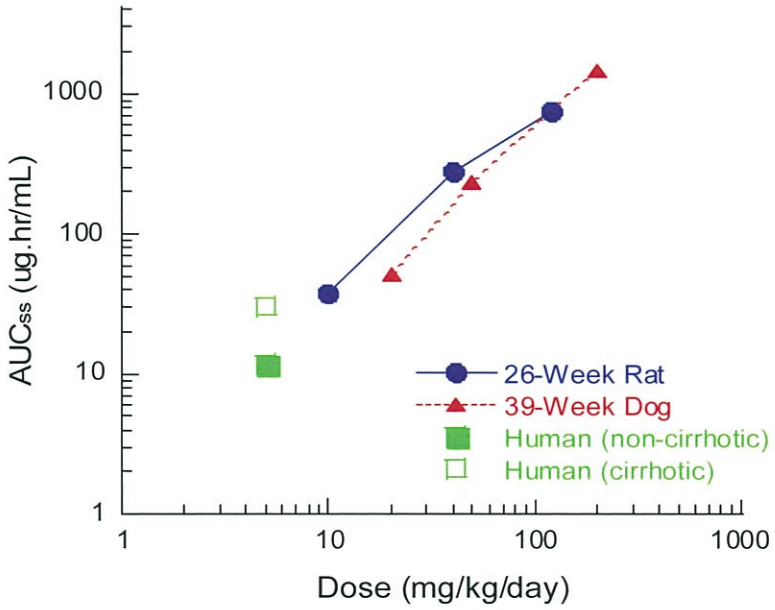
Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report/CTD Number
Two-Week Toxicity	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 10, 30, 300	No	R&D/11/840 (4.2.3.2-PIB-2)
Four-Week Toxicity	Mice CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/13/666 (4.2.3.2-PIB-3)
Thirteen-Week Toxicity	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/12/138 (4.2.3.2-PIB-4)
26-Week Toxicity	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/13/434 (4.2.3.2-PIB-5)
21-Day Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral (dietary)	0, 30, 100	No	R&D/13/340 (4.2.3.2-PIB-6)
Thirteen-Week Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral (gavage)	0, 3, 10, 30	Yes	R&D/13/600 (4.2.3.2-PIB-7)
Two-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral (capsule)	0, 10, 30, 300	No	R&D/11/928 (4.2.3.2-PIB-8)
Thirteen-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral (capsule)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/12/345 (4.2.3.2-PIB-9)
39-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral (capsule)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/13/172 (4.2.3.2-PIB-10)

2.6.7.2 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス試験一覧（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report Number
Fertility and Early Embryonic Development	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/14/0682 (4.2.3.5.1-PIB-1)
Embryo-Fetal Development Range-Finding	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/13/253 (4.2.3.5.2-PIB-1)
Embryo-Fetal Development Definitive	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10, 100	Yes	R&D/13/950 (4.2.3.5.2-PIB-2)
Embryo-Fetal Development Definitive	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF)	Oral (gavage)	0, 10, 100	Yes	R&D/13/958 (4.2.3.5.2-PIB-3)
Embryo-Fetal Development Range-Finding	Rabbit New Zealand White (Hra:(NZW)SPF	Intravenous infusion (15 minutes)	0, 2, 5, 10	No	R&D/13/321 (4.2.3.5.2-PIB-6)
Peri/post-natal developmental toxicity	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	0, 3, 10 , 100	Yes	R&D/15/0822 (4.2.3.5.3-PIB-1)

2.6.7.3 グレカプレビルのトキシコキネティクス



2.6.7.3.1 グレカプレビルのトキシコキネティクス 血漿中グレカプレビル濃度

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Daily Dose (mg/kg/day)	Steady-State AUC (µg•hr/mL)							
	Mice		Rats		Dogs		Pregnant Rats	Pregnant Rabbits
	M	F	M	F	M	F		
10			58[a] 34[c]	34[a] 42[c] 22.0[m]			40[b] 56[d]	
20					10[e] 60[f]	22[e] 41[f]		0.1[g]
30								0.4[h]
40	42[i]	37[i]	256[a] 241[c] 320[k]	250[a] 308[c] 232[k] 208[m]	69[j]	129[j]	287[b] 318[d]	
50					252[f]	221[f]		2.5/2.3[n]
60					264[e]	471[e]		0.7[g]
100	55[o]	136[o]			435[j]	1246[j]		2.2[h]
120			408[a] 626[c] 680[k]	751[a] 843[c] 799[k] 492[m]			625[b] 559[d]	

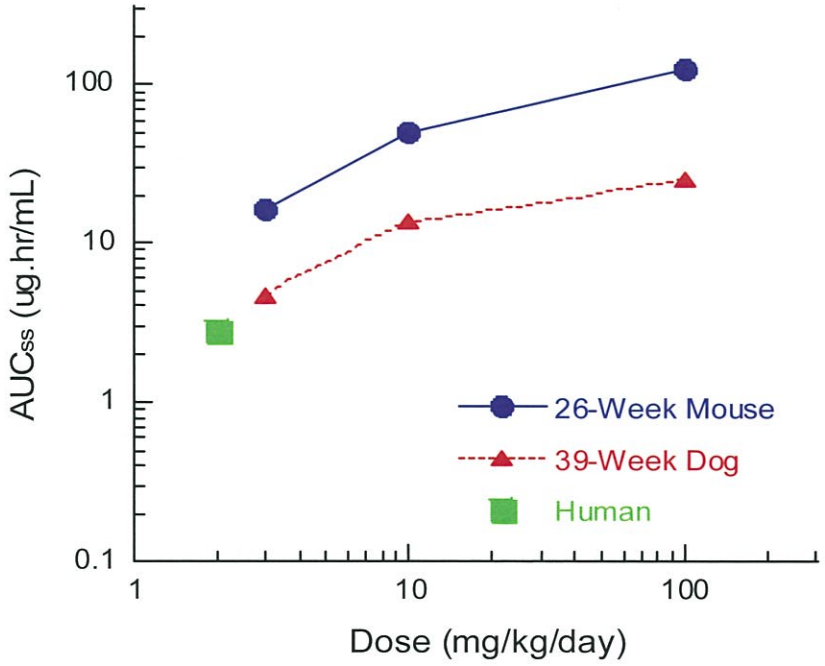
2.6.7.3.1 グレカプレビルのトキシコキネティクス 血漿中グレカプレビル濃度（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Daily Dose (mg/kg/day)	Steady-State AUC (µg•hr/mL)							
	Mice		Rats		Dogs		Pregnant Rats	Pregnant Rabbits
	M	F	M	F	M	F		
125	376[i]	422[i]						
150	168[l]	222[l]						
150	258[l]	395[l]						
200	145[o]	355[o]			641[e] 1500[f] 1278[j]	889[e] 1380[f] 645[j]		
300	242[l]	373[l]						51.7/6.6[n]
300	706[i] 262[o] 271[l]	767[i] 451[o] 435[l]						14.6[h]
600	299[l]	641[l]	422[k]	664[k]				
800	110[l]	436[l]						

a. 13-wk GLP; R&D/11/930; Day 91; doses divided BID
b. EFD DRF GLP; R&D/12/943; GD 17; doses divided BID
c. 26-wk GLP; R&D/14/0001; Day 181; doses divided BID
d. EFD GLP; R&D/13/913; GD 17; doses divided BID
e. 13-week GLP; R&D/11/925; Day 91; doses divided BID
f. 39-wk GLP; R&D/14/0002; Day 273; doses divided BID
g. EFD GLP; R&D/13/679; GD18
h. EFD DRF GLP; R&D/13/840; GD 7
i. 4-wk GLP; R&D/13/682; Day 28
j. 2-wk non-GLP; R&D/11/535; Day 14; doses divided BID
k. 2-wk non-GLP; R&D/11/575; Day 14; doses divided BID
l. 1-wk non-GLP; R&D/13/602; Day 7; BID dose listed first, QD dose listed second
m. Pre/postnatal GLP; R&D/16/0239; (Lactation Day 14); doses divided BID
n. EFD DRF GLP; R&D/12/988; GD Day 7/Day 17 or 18
o. 7-day non-GLP; R&D/13/348; Day 7

2.6.7.3 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス



2.6.7.3.1 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス 血漿中ピブレンタスビル濃度

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Daily Dose (mg/kg)	Steady-State AUC_{0-24} (µg•hr/ml)								
	Mice		Rats		Dogs		Pregnant Mice	Pregnant Rats	Pregnant Rabbits
	M	F	M	F	M	F			
2									3[a]
3	19[b] 16[c] 18[g] 21[h]	16[b] 22[c] 14[g] 15[o]	2[d]	1[d]	3[e] 4[i]	6[e] 5[i]	7[f] 10[j]		
5									5[a]
10	49[b] 53[c] 44[g] 99[k] 69[h]	46[b] 43[c] 54[g] 95[k] 32[o]	8[d]	3[d]	11[e] 8[i] 11[l]	14[e] 19[i] 11[l]	27[f] 24[j]		0.4[m] 21[a]
30	161[k]	165[k]	10[d] 0.4[n]	6[d] 0.3[n]	24[l]	24[l]			
100	112[b] 114[c] 104[g] 153[h]	108[b] 141[c] 141[g] 107[o]	1.5[n]	0.7[n]	32[e] 26[i]	33[e] 25[i]	65[f] 73[j]		2[m]
300	183[k]	213[k]			36[l]	55[l]			

2.6.7.3.1 ピブレンタスビルのトキシコキネティクス 血漿中ピブレンタスビル濃度（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

AUC_{0-24} = Area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose. a. Dose-range-finding intravenous embryo-fetal development in rabbits (R&D/13/321) b. 4-Week oral gavage study in mice (R&D/13/666) c. 13-Week oral gavage study in mice (R&D/12/138) d. 13-Week oral gavage study in rats (R&D/13/600)	e. 13-Week oral capsule study in dogs (R&D/12/345) f. Oral dose-range-finding embryo-fetal development in mice (R&D/13/253) g. 26-Week oral gavage study in mice (R&D/13/434) h. Fertility and early embryonic development in mice (R&D/14/0682) i. 39-Week oral capsule study in dogs (R&D/13/172) j. Oral embryo-fetal development in mice (R&D/13/950)	k. 2-Week oral gavage study in mice (R&D/11/840) l. 2-Week oral capsule study in dogs (R&D/11/928) m. Oral embryo-fetal development in rabbits (R&D/13/638) n. 3-Week dietary study in rats (R&D/13/340) o. Peri/post-natal developmental toxicity (R&D/15/0822)

2.6.7.4 グレカプレビルの毒性試験ー被験物質一覧

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities and Proposed Specifications for Human Use) R* RRT 0 93 RRT 0.94	S* RRT 0.89 RRT 0.90	Report Number	Type of Study
Lots in Animal Studies:	[redacted]%	≤ [redacted]%	≤ [redacted]%		
[redacted]	93.7[a]	0.51[a]	0.11[a]	R&D/11/930	13-wk rat (GLP)
				R&D/11/925	13-wk dog (GLP)
[redacted]	95.8[b]	0.25[b]	0.06[b]	R&D/11/925	13-wk dog (GLP)
[redacted]	97.3[c]	0.51[c]	0.12[c]	R&D/11/925	13-wk dog (GLP)
				R&D/12/270	Bacterial Reverse Mutation (GLP)
				R&D/12/271	Chromosome Aberration (GLP)
[redacted]	97.0[d]	0.52[d]	0.11[d]	R&D/13/002	In vivo Micronucleus (GLP)
				R&D/12/943	Rat Embryo-Fetal Toxicity DRF (GLP)
				R&D/13/913	Rat Embryo-Fetal Toxicity (GLP)
				R&D/12/557	Rabbit vehicle tolerability with TK (non-GLP)
				R&D/12/988	Rabbit Embryo-Fetal Toxicity DRF (GLP)
				R&D/13/840	Rabbit Embryo-Fetal Toxicity DRF (GLP)

a. Certificate of analysis for A-1282576.0, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted]); b. Certificate of analysis for A-1282567.0, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted]), c. Certificate of analysis for A-1282567.0, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted]), d. Certificate of analysis for A-1282567.0, Lot [redacted], ([redacted]-20[redacted])

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 グレカプレビルの毒性試験ー被験物質一覧（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

		Specified Impurities and Proposed Specifications for Human Use)			
		R* RRT 0.93 RRT 0.94	S* RRT 0.89 RRT 0.90		
Batch No.	**Purity (%)**				
Lots in Animal Studies:	[redacted]%	≤ [redacted]%	≤ [redacted]%	**Report Number**	**Type of Study**
[redacted]	94.3[e]	ND[e]	ND[e]	R&D/14/0001	26-wk rat (GLP)
				R&D/14/0002	39-wk dog (GLP)
				R&D/13/679	Rabbit Embryo-Fetal Toxicity (GLP)
[redacted]	94.0[f]	ND[f]	ND[f]	R&D/13/682	4-wk mouse (GLP)
				R&D/14/0002	39-wk dog (GLP)
				R&D/14/0683	Rat Fertility (GLP)
[redacted]	93.2[g]	ND[g]	ND[g]	R&D/16/0239	Peri/postnatal Toxicity (GLP)

ND = Not detected; Note: ARM-11-01435 provides correlation of relative retention times and identification of impurities by A number

e. Certificate of analysis for A-1282576.0, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted]); f. Certificate of analysis for A-1282567.0, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted]); g. Certificate of analysis for A-1282567, Lot [redacted] ([redacted]-20[redacted])

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 ピブレンタスビルの毒性試験ー被験物質一覧

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

		Specified Impurities						
Batch No.	Purity (%)	Unknown B (L*) Drug Substance	Unknown C (K*) Drug Substance	Unknown G (N*) Drug Substance	Unknown J (M*) Drug Substance	Unknown H (O*) Drug Substance/ Drug Product	Report Number	Type of Study
Proposed Specification: [redacted][a]	[redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT 0.50%/ NMT [redacted]%		
	98.1%	0.14	0.06	0.06	0.11	0.23	R&D/13/666	4-week oral toxicity study in mice
							R&D/12/138	13-week oral toxicity study in mice
							R&D/13/434	26-week oral toxicity study in mice
							R&D/13/600	13-week oral toxicity study in rats
							R&D/12/345	13-Week oral toxicity study in dogs
							R&D/13/172	39-week oral toxicity study in dogs[b]
							R&D/12/269	Bacterial reverse mutation assay
							R&D/12/265	Chromosomal aberration assay in human peripheral lymphocytes

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 ピブレンタスビルの毒性試験－被験物質一覧（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities L*	K*	N*	M*	O*	Report Number	Type of Study
Proposed Specification:	[redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%/ NMT [redacted]%		
							R&D/13/014	In vivo mouse micronucleus assay
							R&D/13/253	Embryo-fetal development DRF in mice
							R&D/13/950	Embryo-fetal development in mice
							R&D/13/638	Embryo-fetal development in rabbits
[redacted] [c]	98.6%	0.30	0.28	0.11	< 0.05	0.27	R&D/13/172	39-week oral toxicity study in dogs [d]
[redacted] [c]	98.4%	0.30	0.05	0.05	0.33	0.28	R&D/14/0682	Fertility and early embryonic development in mice
							R&D/15/0822	Peri/post-natal developmental in mice
Lot [redacted]	98.8%	0.09	0.06	0.11	0.14	0.28	R&D/16/0640	Four-week mouse with impurities
Lot [redacted]	97.8%	0.06	0.07	0.13	0.16	0.33	R&D/16/0640	Four-week mouse with impurities

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 ピブレンタスビルの毒性試験－被験物質一覧（続き）

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Batch No.	Purity (%)	Unspecified Impurities: P* Drug Substance/Drug Product	Unspecified Impurities: Q* Drug Product [f]	Report Number	Type of Study
Proposed Specification:	[redacted]%	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%		
[redacted] [c]	98.6%	0.02	ND	R&D/13/172	39-week oral toxicity study in dogs [d]
Lot [redacted]	98.8%	< 0.05	ND	R&D/16/0640	Four-week mouse with impurities
Lot [redacted]	97.8%	<0.05	0.17	R&D/16/0640	Four-week mouse with impurities

NMT = no more than; ND = Not detected

a. Certificate of Analysis for A-1325912.0, Lot [redacted] (approved [redacted] 20[redacted]). Retention times are correlated with impurity identifiers in AME-16-01402. Lot [redacted] was a sublot of drug substance ([redacted]) that was used in the early clinical trials.

b. Lot [redacted] was used from Day 1 to 161 of the 39-week oral toxicity study in dogs.

c. Lot [redacted] was utilized in nonclinical studies only.

d. Lot [redacted] was used from Day 162 to 282 of the 39-week oral toxicity study in dogs.

e. Certificate of Analysis for A-1325912.0, Lot [redacted] (approved [redacted] 20[redacted]). Retention times are correlated with impurity identifiers in AME-16-01403. Lot [redacted] was a sublot of drug substance ([redacted])

f. Q* is not a drug substance manufacturing impurity but the analytical method has selectivity for the impurity such that if it is observed it will be reported. Although not listed on the certificates of analysis for lots [redacted] and [redacted], it was not present above detectable limits given by the method.

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 グレカプレビルの単回投与毒性試験ー単回投与毒性試験実施せず

2.6.7.5 ピブレンタスビルの単回投与毒性試験

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and Number per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Rabbit New Zealand White	Intravenous infusion (15 minutes) (in PEG-300: D5W: Tween 80 (89.5/10/0.5))	5, 50	2 females	5	50	50 mg/kg ABT-530 resulted in test article-related mortality at a concentration that likely exceeded the 40 µg/mL solubility limit for ABT-530 in plasma. A single intravenous dose of 5 mg/kg ABT-530 was tolerated and resulted in a $C_{0.25h}$ of 5.9 µg/mL and an $AUC_{0-\infty}$ of 12.5 µg•hr/mL.	R&D/13/029 (4.2.3.1-PIB-1)

2.6.7.6 グレカプレビルの反復投与毒性試験－主要な試験以外の試験

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Mouse Tg(HRAS)2Jic Wild type (Non-Transgenic Littermates)	Oral gavage (PEG400: Tween 20: Poloxamer 124 (70%:20%:10%, by weight))	7 days	150, 300, 600, 800	Males 3 Females 3 Group 2 (5) satellite for blood plasma	800	None	R&D/13/602 (4.2.3.2-GLE-1)
Mouse Tg(HRAS)2Jic Wild type (Non-Transgenic Littermates)	Oral Gavage (Tween20: Poloxamer124: Copovidone; 13.3:6.7:80 suspended in water with 0.1% (v:v) Dow Medical Antifoam C Emulsion)	7 days	100, 200, 300	Males 5 Females 5	300	All nonadverse: **100, 200, 300 mg/kg/day**: minimal ↓ indicators of red blood cell mass (F) **200, 300 mg/kg/day**: minimal hematologic changes consistent with a bone marrow regenerative response (M). Mild ↑ cholesterol (M) **300 mg/kg/day**: Mild ↑ cholesterol (F)	R&D/13/348 (4.2.3.2-GLE-2)
Rat, Sprague-Dawley	Oral via gavage (PEG-400: Tween 20: Poloxamer 124 (70:20:10, by weight))	14 days	40, 120, 600	Males: 5 Females: 5	600	No test item-related adverse findings.	R&D/11/575 (4.2.3.2-GLE-4)
Dog Beagle	Oral via capsule (PEG400: Tween 20: Poloxamer 124 (70%:20%:10%, by weight))	14 days	40, 100, 200	Males: 2 Females: 2	200	**200 mg/kg/day:** Mild, diffuse transmural edema of the gall bladder in males	R&D/11/535 (4.2.3.2-GLE-7)

a. No-Observed-Adverse-Effect Level

2.6.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー主要な試験以外の試験

Test Article: Pibrentasvir (ABT-530)

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Daily Doses (mg/kg)	Sex and Number per Group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Mouse, CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-Transgenic Littermates)	Oral Gavage (Phosal 53MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40 (40:20:20:20, by weight))	7 days	0, 30, 100, 300	Male and Female, 5/sex/group main study; 3 (control) or 11/sex/group for toxicokinetics	ND	None	R&D/13/432 (4.2.3.2-PIB-1)
Mouse, CD-1 Crl: [CD® (SD)]	Oral gavage (Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 [40:20:20:20 by weight])	14 or 15 days	0, 10, 30, 300	Male and Female, 5/sex/group main study; 6 (control) or 36/sex/group for toxicokinetics	300	None	R&D/11/840 (4.2.3.2-PIB-2)
Rat Sprague-Dawley	Diet (Milled Harlan Teklad Global Certified 2018 rodent diet, ad libitum)	21 consecutive days	0 (meal only), 30, 100	5/sex/group	ND	None	R&D/13/340 (4.2.3.2-PIB-6)
Dog, Beagle	Oral capsule (A-1325912 free form in Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40/20/20/20 by weight)	14 days	0, 10, 30, 300	Males: 2 Females: 2	300	None	R&D/11/928 (4.2.3.2-PIB-8)

ND = Not determined

a. No-Observed-Adverse-Effect Level

2.6.7.7 グレカプレビルの反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Four Week Oral Toxicity Study of A-1282576 Free Form in CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non Transgenic Littermates) Mice

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Mice/CByB6F1-Tg (HRAS)2 Jic Wild Type (non-transgenic littermates)	**Duration of Dosing:**	28 or 29 Consecutive Days	**Report Number:**	R&D/13/682
				CTD Location:	4.2.3.2-GLE-3
Initial Age:	9 Weeks	**Duration of Postdose:**	None	**Study Number:**	TD13-088
Date of First Dose:	[redacted]20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral Gavage	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: PEG 400: Tween 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 2 mL/kg

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/day

2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/682（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**40 Low**	**125 Mid**	**300 High**	**0 (Vehicle)**	**40 Low**	**125 Mid**	**300 High**
Number of Main Study Animals	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**
Number of Animals per Timepoint (Toxicokinetics)	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:								
Day 28: C_{max} (µg/mL)	BLOQ	8.79	80.8	164	BLOQ	18.8	119	205
Day 28: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NA	41.6	376	706	NA	36.9	422	767
Noteworthy Findings								
Dosing Phase								
Number of Animals (Main Study)	10	10	10	10	10	10	10	10
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験一報告書番号 R&D/13/682（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	40 Low	125 Mid	300 High	0 (Vehicle)	40 Low	125 Mid	300 High
Number of Main Study Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	F:10	F:10	F:10	F:10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry								
Cholesterol (mg/dL)	116.3	124.1	132.2*	143.9***	84.8	91.9	92.1	100.6***
Alkaline Phosphatase (IU/L)	76.8	76.5	88.0**	91.2***	124.2	122.9	129.9	139.6*
Total Bilirubin (mg/dL)+								
	≤ 0.1 to 0.1 (10 of 10)	≤ 0.1 to 0.1 (9 of 10) 0.2 (1 of 10)	≤ 0.1 to 0.1 (4 of 10) 0.2 (6 of 10)	≤ 0.1 to 0.1 (4 of 9) 0.2 (5 of 9)	≤ 0.1 to 0.1 (9 of 10) 0.2 (1 of 10)	≤ 0.1 to 0.1 (7 of 8) 0.2 (1 of 8)	≤ 0.1 to 0.1 (6 of 8) 0.2 (2 of 8)	≤ 0.1 to 0.1 (4 of 10) 0.2 (6 of 10)

+: Because of limited amount of blood available from mice, the numbers of animal available for the measurement are 9, 8, and 8 for 300 mg/kg in male, 40 mg/kg in female and 125 mg/kg in female, respectively

2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/682（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	40 Low	125 Mid	300 High	0 (Vehicle)	40 Low	125 Mid	300 High
Number of Main Study Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	F:10	F:10	F:10	F:10
Organ Weightsa (%)								
Liver, absolute	-	-	-	-	1.02	-	+7	+7
Liver, % terminal body weight	-	-	-	-	4.52	-	+6	+9**
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	NE	NE	-	-	NE	NE	-

2.6.7.7.1 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/682（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
-	No noteworthy findings
NE	Not Examined
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$
***	$p < 0.001$

a. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for organ weights. Mean value is shown for controls.

2.6.7.7.2 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：Thirteen Week Oral Toxicity Study of A-1282576 Free Acid in Sprague Dawley Rats with a Four Week Recovery Period

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:**	13 weeks	**Report Number:**	R&D/11/930
				CTD Location:	4.2.3.2-GLE-5
Initial Age:	9 weeks	**Duration of Postdose:**	4 weeks	**Study Number**	TA11-141
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage, BID	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: PEG-400:Tween 20:Poloxamer 124 (70:20:10 %w/w); 2 mL/kg/dose

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect-Level: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

2.6.7.7.2 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/11/930（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	**0 (Control)**		**10**		**40**		**120**	
Number of Animals (Toxicokinetics - Sparse Sampling)	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics: A-1282576[b]								
Day 1: C_{max}^1 (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	5.18	4.63	31.1	25.6	56.7	56.2
Day 1: C_{max}^2 (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	5.42	5.03	35.0	30.3	58.6	72.6
Day 1: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	44.6	30.4	315	286	530	664
Day 91: C_{max}^1 (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	6.29	5.57	34.8	34.6	47.4	102
Day 91: C_{max}^2 (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	7.89	5.54	33.5	32.1	63.5	80.8
Day 91: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	57.8	33.8	256	250	408	751
Noteworthy Findings								
Dosing Phase								
Number of Animals (Main Study)[c]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

BQL: Below quantitation limit (< 0.0651 µg/mL).
- No noteworthy/adverse findings.

a. Dose levels expressed in mg/kg/day total daily dose level. Total daily dose was divided for BID (six hour) administration.
b. BID dosing: C_{max}^1 refers to the period following the first of the two daily doses and C_{max}^2 refers to the period following the second of the two daily doses.
c. Five rats per sex per Group were designated as recovery rats and were not sacrificed after the thirteen-week dosing period, but were maintained for a four-week recovery period.

2.6.7.7.2 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/11/930（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		10		40		120	
Number of Animals[b]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals (Main)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

- No noteworthy/adverse findings.

NE: Not Examined

a. Dose levels expressed in mg/kg/day total daily dose level. Total daily dose was divided for BID (six hour) administration.

b. Five rats per sex per Group were designated as recovery rats and were not sacrificed after the thirteen-week dosing period, but were maintained for a four-week recovery period.

2.6.7.7.2 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/11/930（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	**0 (Control)**		**10**		**40**		**120**	
Noteworthy Findings **Recovery Phase**								
Number of Animals[b]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

- No noteworthy/adverse findings.

NE: Not Examined.

a. Dose levels expressed in mg/kg/day total daily dose level. Total daily dose was divided for BID (six hour) administration.

b. Five rats per sex per Group were designated as recovery rats and were not sacrificed after the thirteen-week dosing period, but were maintained for a four-week recovery period.

2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：A-1282576 Free Form: A 26 Week BID Oral Dose Toxicity Study in Sprague Dawley Rats (Crl:SD) with a 4 Week Recovery Period

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rat/CD® [Crl:CD®(SD)]	**Duration of Dosing:**	26 Weeks	**Report Number:**	R&D/14/0001
				CTD Location:	4.2.3.2-GLE-6
Initial Age:	Approximately 7.5 weeks	**Duration of Postdose:**	4 Weeks	**Study Number**	TA13-005 [redacted] 2100-030
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage, BID	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Polyethylene Glycol (PEG) 400: Tween® 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 2 mL/kg/dose

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect-Level: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/14/0001（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Twice Daily Dose (mg/kg BID) [a]	0	5	20	60	0	5	20	60
Number of Animals	27	20	20	27	27	20	20	27
Toxicokinetics: [b]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)								
Day 1	NA	25.3	190	1030	NA	29.4	250	934
Day 181	NA	33.5	241	626	NA	42.3	308	843
C_{max} [1 c] (µg/mL)								
Day 1	BLOQ	1.32	11.3	88.5	BLOQ	3.77	17.4	71.8
Day 181	BLOQ	4.40	21.7	98.5	BLOQ	5.07	31.5	101
C_{max} [2 d] (µg/mL)								
Day 1	BLOQ	4.59	39.5	118	BLOQ	5.02	33.9	141
Day 181	BLOQ	4.62	53.8	63.6	BLOQ	6.74	47.0	135

2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験一報告書番号 R&D/14/0001（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Twice Daily Dose (mg/kg BID) [a]	**0**	**5**	**20**	**60**	**0**	**5**	**20**	**60**
Number of Main Study Animals	**27**	**20**	**20**	**27**	**27**	**20**	**20**	**27**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [c]	1	0	1	2	2	1	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Potassium	7.98	-	6.77*	6.67*	-	-	-	-
Phosphorus	9.34	-	-	8.43*	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [f]	-	NE	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/14/0001（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

RECOVERY ANIMALS								
Sex	**Males**				**Females**			
Twice Daily Dose (mg/kg BID)[a]	**0**	**5**	**20**	**60**	**0**	**5**	**20**	**60**
Number of Recovery Animals	**7**	**0**	**0**	**7**	**7**	**0**	**0**	**7**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Food Consumption	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry		NA	NA		-	NA	NA	-
Potassium	8.34	NA	NA	6.59	-	NA	NA	-
Phosphorus	9.03	NA	NA	7.47*	-	NA	NA	-
Urinalysis	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Histopathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-

2.6.7.7.3 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/14/0001（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BID	Twice Daily
BLOQ	Below Limit of Quantitation (Lower Limit of Quantitation = 0.0651 µg/mL)
NA	Not Applicable
No.	Number
*	$p < 0.05$
-	No noteworthy findings

a. 0, 10, 40, and 120 mg/kg/day glecaprevir was administered to animals in the 0, 5, 20, and 60 mg/kg BID groups, respectively.

b. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

c. Data represents the period following the first of two daily doses.

d. Data represents the period following the second of two daily doses.

e. None of the deaths were test item-related. Six animals had findings consistent with dosing-related injury, while one male and one female from the control group died of unknown causes.

f. No target tissues were identified in the 60 mg/kg BID group; therefore, the only tissues evaluated in the 5 and 20 mg/kg BID groups were tissues from animals that died early or tissues from selected animals in the 20 mg/kg BID group that had clinical pathology abnormalities.

2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：Thirteen Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1282576 in Beagle Dogs (With a Four Week Recovery Period)

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted], [redacted], [redacted]

Species/Strain:	Dog, Beagle	**Duration of Dosing:**	91-94 days	**Report Number:**	R&D/11/925
				CTD Location:	4.2.3.2-GLE-8
Initial Age:	9 months	**Duration of Postdose:**	28 days	**Study Number**	TB11-142
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral capsule, BID	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: PEG 400:Tween 20:Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 1 mL/kg/dose

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 200 mg/kg/day (100 mg/kg BID)

2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/11/925（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted], [redacted], [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	**0 (Control)**		**20 (Low Dose)**		**60 (Mid Dose)**		**200 (High Dose)**	
Number of Animals[b]	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4	F: 4	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4 (2)	F: 4 (2)
Toxicokinetics:[c] Day 1								
Day 1: $C_{max}{}^{1}$ (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	8.43	7.67	43.1	80.9	85.8	89.1
Day 1: $C_{max}{}^{2}$ (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	2.12	1.77	30.5	55.3	74.4	110
Day 1: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	25.9	21.1	292	591	935	1430
Toxicokinetics:[c] Day 91								
Day 91: $C_{max}{}^{1}$ (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	1.69	6.98	49.8	71.3	93.2	74.7
Day 91: $C_{max}{}^{2}$ (µg/mL)	BLOQ	BLOQ	1.16	2.31	32.9	48.0	51.5	81.6
Day 91: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NA	NA	10.1	22.0	264	471	641	889

BLOQ: Below Limit of Quantitation: NA: Not Applicable

-No quantifiable levels of glecaprevir were present in animals from the control group.

a. BID; 6-hour ± 15-minute interval between two dosings.

b. Number in parentheses indicates number of recovery animals.

c. Group means are presented.

2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/11/925（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted], [redacted], [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		20 (Low Dose)		60 (Mid Dose)		200 (High Dose)	
Noteworthy Findings **Dosing Phase**								
Number of Animals	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4	F: 4	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4 (2)	F: 4 (2)
Died or Unscheduled Euthanasia	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (kg)[b]	10.667	8.539	-	-	-	-	-	-
Body Weight Gain (%)[c]	8.2	4.7	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/day)[b]	326	237	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings

a. BID; 6-hour ± 15-minute interval between two dosings.

b. Group means at end of dosing period.

c. Group means at end of dosing period, value is calculated percent weight change from Baseline Day 35 to Dosing Day 91.

2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/11/925（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted], [redacted], [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		20 (Low Dose)		60 (Mid Dose)		200 (High Dose)	
Number of Animals	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4	F: 4	M: 4 (2)	F: 4 (2)	M: 4 (2)	F: 4 (2)
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkaline Phosphatase	98.7	73.2	112.8	72.0	133.3	140.7	199.8*	181.0
Alanine Aminotransferase	38.0	35.2	43.0	30.5	37.3	37.7	48.3	44.3
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations[b]								
Gall Bladder, Edema, Minimal[c]	0	0	1	0	1	2	0	1

- No noteworthy findings; * $p < 0.05$

a. BID; 6-hour ± 15-minute interval between dosings.

b. Number indicates incidence.

c. Considered test item-related, but nonadverse. No similar findings at the end of the recovery period.

2.6.7.7.4 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/11/925（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted], [redacted], [redacted]

Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		20 (Low Dose)		60 (Mid Dose)		200 (High Dose)	
Recovery Phase								
Number of Animals	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy Findings	-	-	NA	NA	-	-	-	-

- No noteworthy findings: NA: Not Applicable

a. BID; 6-hour ± 15-minute interval between dosings.

2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：A-1282576: A 39 Week BID Oral Dose Toxicity Study in Beagle Dogs with an 8 Week Recovery Period

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Species/Strain:	Beagle dog	**Duration of Dosing:**	39 weeks	**Report Number:**	R&D/14/0002
				CTD Location:	4.2.3.2-GLE-9
Initial Age:	Approximately 7 to 8 months	**Duration of Postdose:**	8 weeks	**Study Number**	TB13-006 [redacted] 2100-031
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral Capsule, BID	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Polyethylene Glycol (PEG) 400: Tween® 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 1 mL/kg/dose

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect-Level: 200 mg/kg/day (100 mg/kg BID)

2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/14/0002（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Sex	Males				Females			
Twice Daily Dose (mg/kg BID) [a]	**0**	**10**	**25**	**100**	**0**	**10**	**25**	**100**
Number of Animals	**6**	**4**	**4**	**6**	**6**	**4**	**4**	**6**
Toxicokinetics: [b]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)								
Day 1	NA	23.2	112	1750	NA	18.5	114	873
Day 273	NA	60.2	252	1500	NA	40.8	221	1380
C_{max} [1] [c] (µg/mL)								
Day 1	BLOQ	5.95	16.1	68.1	BLOQ	5.62	19.8	30.1
Day 273	BLOQ	15.5	54.7	110	BLOQ	9.92	60.7	124
C_{max} [2] [d] (µg/mL)								
Day 1	BLOQ	2.17	23.2	162	BLOQ	1.02	23.7	110
Day 273	BLOQ	5.05	30.9	118	BLOQ	5.31	18.8	121

2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/14/0002（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Sex	Males				Females			
Twice Daily Dose (mg/kg BID) [a]	**0**	**10**	**25**	**100**	**0**	**10**	**25**	**100**
Number of Animals [c]	**6**	**4**	**4**	**6**	**6**	**4**	**4**	**6**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-		
GGT	-	-	-	-	3.5	-	-	7.0
ALT	-	-	-	-	25.8	-	63.8	66.7
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/14/0002（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

RECOVERY ANIMALS								
Sex	**Males**				**Females**			
Twice Daily Dose (mg/kg BID)[a]	**0**	**10**	**25**	**100**	**0**	**10**	**25**	**100**
Number of Recovery Animals	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Food Consumption	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Electrocardiography	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Urinalysis	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Histopathology	-	NA	NA	NE	NE	NA	NA	NE

2.6.7.7.5 グレカプレビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/14/0002（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BID	Twice Daily
BLOQ	Below Limit of Quantitation (Lower Limit of Quantitation = < 0.0201 µg/mL, Day 1, 20 and 50 mg/kg/day BID; < 0.0182 µg/mL, Day 273, 20 and 50 mg/kg/day BID)
NA	Not applicable
NE	Not examined (for example, at recovery, only gross lesions were examined since there were no target tissues)
No.	Number
-	No noteworthy findings

a. 0, 20, 50, and 200 mg/kg/day glecaprevir was administered to animals in the 0, 10, 25, and 100 mg/kg BID groups, respectively.

b. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

c. C_{max}^{1} refers to the period following the first of the two daily doses.

d. C_{max}^{2} refers to the period following the second of the two daily doses.

e. For dose groups containing recovery animals, measurements of organ weight, gross observations, and microscopic observations are based upon main study animals only (four/sex/group).

2.6.7.7 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：Four Week Oral Toxicity Study of A-1325912 in CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non Transgenic Littermates) Mice

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Mice/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type (non-transgenic littermates)	**Duration of Dosing:**	28 or 29 Consecutive Days	**Report Number:**	R&D/13/666
				CTD Location:	4.2.3.2-PIB-3
				Study Number	TD13-126
Initial Age:	9 weeks at dosing	**Duration of Postdose:**	None	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted]20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage (2 mL/kg)		

Vehicle: Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40 (40:20:20:20, by weight)

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/666（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**3 Low**	**10 Mid**	**100 High**	**0 (Vehicle)**	**3 Low**	**10 Mid**	**100 High**
Number of Main Study Animals	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**
Number of Animals (Toxicokinetics - Satellite)	**4**	**10**	**10**	**10**	**4**	**10**	**10**	**10**
Number of Animals per Timepoint (Toxicokinetics - Sparse Sampling)	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Toxicokinetics: Day 28								
Day 28: C_{max} (µg/mL)	BLOQ	0.93	2.61	5.33	BLOQ	0.7	2.17	5.23
Day 28: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	BLOQ	18.9	49.2	112	BLOQ	15.5	45.7	108
Noteworthy Findings								
Number of Animals (Main Study)	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	1[a]	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/666（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	100 High	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	100 High
Number of Main Study Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	F:10	F:10	F:10	F:10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験一報告書番号 R&D/13/666（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	100 High	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	100 High
Number of Main Study Animals	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of animals examined microscopically[b]	**M:10**	**M:0**	**M:2**	**M:10**	**F:10**	**F:2**	**F:0**	**F:10**
Microscopic Observations	-	NA	-	-	-	-	NA	-

2.6.7.7.1 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/666（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
NE	Not examined
-	No noteworthy findings

a. Animal 2002 was found dead on Dosing Day 19 due to caging injury.

b. Tissues from control, high dose groups and from animals that died prior to scheduled necropsy or with gross lesions were examined microscopically.

2.6.7.7.2 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral Toxicity Study of A-1325912 in CD-1 Mice with a Four Week Recovery Period

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Mice/CD-1	**Duration of Dosing:**	91 to 92 days	**Report Number:**	R&D/12/138
				CTD Location:	4.2.3.2-PIB-4
				Study Number	TD12-007
Initial Age:	10 weeks at dosing	**Duration of Postdose:**	4 weeks	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage (2 mL/kg)		

Vehicle/Formulation: Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20)

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day

2.6.7.7.2 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/12/138（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**100**	
Number of Animals (Toxicokinetics - Satellite)	M:8	F:8	M:38	F:38	M:38	F:38	M:38	F:38
Toxicokinetics:								
Day 91: C_{max} (µg/mL)	BQL	BQL	0.781	1.11	2.78	2.48	5.05	7.46
Day 91: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	BQL	BQL	15.7	21.9	52.9	43.0	114	141
Noteworthy Findings [a]								
Dosing Phase								
Number of Animals (Main Study)	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
Unscheduled Euthanasia [b]	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen weight(g), females, absolute [c]	-	0.137721	-	-23*	-	-30*	-	-17
Spleen weight, females, relative [c]	-	0.40328	-	-20	-	-20	-	-10
Number of Animals (Main Study) [d]	M:10	F:10	M:1	F:0	M:0	F:0	M:10	F:10
Anatomic Pathology	-	-	-	NE	NE	NE	-	-

2.6.7.7.2 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/12/138（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BQL	Below the lower quantitation limit
NE	Not examined, gross lesion examined microscopically in one low dose male animal.
-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$ (Dunnet's Exact Homogeneous Test)

a. There were no adverse or noteworthy findings in this study. Consequently, finding categories have been reduced and are listed to indicate that there are no noteworthy findings. There were five animals/sex in the control group (0 mg/kg/day) and at 100 mg/kg/day in the one-month recovery phase; all animals survived to scheduled necropsy and there were no adverse or noteworthy findings.

b. Main Study Animal 4020 was euthanized on Day 17 due to an injury to the right eye. Additionally (not shown above), three TK satellite animals were euthanized in poor clinical condition. These animals were a Group 1 male (replaced prior to dosing on Day 1), a Group 1 female (hind limb paralysis, Day 18), and a Group 4 female (dosing injury, Day 81). None of the conditions necessitating euthanasia were considered to be related to the test item or were in control animals.

c. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for absolute organ weights and organ weights relative to terminal body weight. Mean values are listed for controls. Statistical significance is based on actual data, not percent differences.

d. Tissues from control and high dose groups and from one low dose male animal with a gross finding were examined microscopically. Tissues from recovery animals were not examined microscopically based on the absence of findings in animals examined at the end of the dosing period.

2.6.7.7.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：A-1325912 Free Form: A 26 Week Oral Toxicity Study with an 8 Week Recovery Period in Mice

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: Crl:CD1® (ICR) mouse **Duration of Dosing:** 26 weeks **Report Number:** R&D/13/434
CTD Location: 4.2.3.2-PIB-5
Initial Age: Approximately 7 weeks at dosing **Duration of Postdose:** 8 weeks **Study Number** TD13-007 [redacted]2100-032
Date of First Dose: [redacted]20[redacted] **Method of Administration:** Oral gavage (2 mL/kg) **GLP Compliance:** Yes
Vehicle/Formulation: Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)
Special Features: None
No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day

Gender	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**3**	**10**	**100**	**0**	**3**	**10**	**100**
Number of TK Animals	**9**	**38**	**38**	**38**	**9**	**38**	**38**	**38**
Toxicokinetics: [a]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)								
Day 1	NA	10.8	32.9	91.8	NA	10.7	32.0	96.3
Day 182	NA	18.4	44.1	104	NA	13.6	53.9	141
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	BLOQ	0.581	2.22	5.58	BLOQ	0.543	1.84	6.50
Day 182	BLOQ	0.908	2.39	5.72	BLOQ	0.642	2.82	6.87

2.6.7.7.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/434（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Gender	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**3**	**10**	**100**	**0**	**3**	**10**	**100**
Number of Main Study Animals[b]	**30**	**20**	**20**	**30**	**30**	**20**	**20**	**30**
Noteworthy Findings:								
Died or Unscheduled Euthanasia[c]	3	0	1	1	0	0	0	2
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals	**9 or 10**	**10**	**9 or 10**	**9 or 10**	**10**	**10**	**10**	**8 or 10**
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals	**19**	**20**	**19**	**19**	**20**	**20**	**20**	**18**
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals[d]	**22**	**2**	**2**	**20**	**20**	**1**	**3**	**20**
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/434（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Recovery Animals								
Gender	**Males**				**Females**			
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**3**	**10**	**100**	**0**	**3**	**10**	**100**
Number of Recovery Animals	**8**	**0**	**0**	**10**	**10**	**0**	**0**	**10**
Noteworthy Findings:								
Died or Unscheduled Euthansia	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Food Consumption	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Number of Animals	**3 or 5**	**0**	**0**	**5**	**4 or 5**	**0**	**0**	**4 or 5**
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Number of Animals	**8**	**0**	**0**	**10**	**10**	**0**	**0**	**10**
Organ Weights	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Number of Animals	1	0	0	1	0	0	0	3
Histopathology[e]	-	NA	NA	-	NE	NA	NA	-

2.6.7.7.3 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/434（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation (Lower Limit of Quantitation = 0.0367µg/mL)
NA	Not applicable
NE	Not examined
NM	Not measured
No.	Number
TK	Toxicokinetic
-	No noteworthy findings

a. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

b. Twelve additional animals per sex served as sentinel animals for health screening purposes only. All health screen serology sample results were negative for all pathogens evaluated

c. None of the found dead or early terminations were considered test article-related due to occurrence in control group and/or proximity to dose administration (e.g., gavage and/or handling error).

d. Number of animals examined histologically including main study animals, animals euthanized prior to scheduled necropsy or animals with gross findings as per Study Plan.

e. With the exception of animals with gross lesions, tissues from recovery animals were not examined microscopically based on the absence of findings in animals examined at the end of the dosing period.

2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：Thirteen Week Oral Dose Toxicity Study of A-1325912 Free Form in Sprague Dawley Rats

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:**	91-92 Consecutive Days	**Report Number:**	R&D/13/600
				CTD Location:	4.2.3.2-PIB-7
Initial Age:	9 weeks at dosing	**Duration of Postdose:**	None	**Study Number**	TA13-194
Date of First Dose:	[redacted]20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage (2 mL/kg)	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Phosal 53MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40 (40:20:20:20 w/w)

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 30 mg/kg/day

2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験一報告書番号 R&D/13/600（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**3 Low**	**10 Mid**	**30 High**	**0 (Vehicle)**	**3 Low**	**10 Mid**	**30 High**
Number of Study Animals	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetics [a]								
Day 1: C_{max} (µg/mL)	BLOQ	0.132	0.296	0.988	BLOQ	0.0845	0.285	0.725
Day 1: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	BLOQ	1.26	3.07	7.70	BLOQ	0.790	2.24	6.13
Day 85: C_{max} (µg/mL)	BLOQ	0.149	0.613	0.832	BLOQ	0.131	0.298	0.601
Day 85: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	BLOQ	2.12	7.89	10.2	BLOQ	1.23	2.85	5.61
Noteworthy Findings								
Dosing Phase								
Died or Unscheduled Euthanasia [b]	0	1	1	0	0	1	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/600（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	30 High	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	30 High
Number of Main Study Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	F:10	F:10	F:10	F:10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry[c]								
Albumin, g/dL (%)	3.30	(-5%)	(-5%)	(-4%)	4.00	(-6%)	(-6%)	(-2%)
AGR	0.9	(-3%)	(-4%)	(-3%)	1.20	(-6%)	(-5%)	(-4%)
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/600（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	30 High	0 (Vehicle)	3 Low	10 Mid	30 High
Number of Main Study Animals	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**M:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**	**F:10**
Organ Weights [d] (%)								
Thyroid (absolute)	0.025021	+6	+24	+34*	-	-	-	-
Thyroid (relative)	0.00411	+11	+22	+42*	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Main Study Animals [c]	**10**	**5**	**5**	**10**	**10**	**3**	**1**	**10**
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/600（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
AGR	Albumin/globulin ratio
BLOQ	Below Limit of Quantitation
-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$
NA	Not applicable

a. Toxicokinetic data were derived from sparse sampling of main study animals.

b. There were four unscheduled deaths in this study (including one replacement on Day 3 in the 30 mg/kg/day male group due to umbilical hernia; not shown in this table); none was considered related to test item administration. Two deaths were due to dosing-related injury (10 mg/kg/day male and 3 mg/kg/day female; Dosing Days 86 and 34, respectively). One male (3 mg/kg/day) was euthanized due to an accidental laceration on Dosing Day 85.

c. Albumin and AGR values measured on Day 92. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown in parentheses.

d. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for organ weights. Mean value is shown for controls.

e. Tissues for each main study rat in the control and high-dose groups and for any rat euthanized or found dead prior to scheduled necropsy were microscopically. Gross lesions were examined microscopically for animals in all dose groups.

2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書の題名：Thirteen Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1325912 in Beagle Dogs with a Four Week Recovery Period

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Dog/Beagle	**Duration of Dosing:**	91-93 days	**Report Number:**	R&D/12/345
				CTD Location:	4.2.3.2-PIB-9
Initial Age:	7 months	**Duration of Postdose:**	28 days	**Study Number**	TB12-008
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (formulation in capsule)	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Phosal 53 MCT: Polyethylene Glycol 400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40%:20%:20%:20%, by weight)

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day

2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/12/345（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**100**	
Number of Animals (Toxicokinetics)	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics: Day 91								
Day 91: C_{max} (µg/mL)	BQL	BQL	0.264	0.578	1.00	1.12	2.11	2.75
Day 91: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	NC	NC	3.45	5.70	11.4	14.2	31.5	33.4
Noteworthy Findings								
Dosing Phase								
Number of Animals (Main Study)	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg) [a]	8.96	8.06	-	-	-	-	-	-
Body Weight Gain (kg) [b]	1.09	1.13	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/day) [c]	259.77	161.47	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/12/345（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**100**	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験一報告書番号 R&D/12/345（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		100	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations [d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Noteworthy Findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Phase								
Number of Animals	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Died or Unscheduled Euthansia	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg) [e]	8.98	8.04	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/day) [f]	263.9	160.5	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.5 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/12/345（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
NA	Not applicable
-	No noteworthy findings
NC	Not calculated

a. Study Day 91. For controls, group means are shown. There were no statistically significant differences between the control and treated groups.
b. Over the entire dosing period (Study Days 1 to 91). For controls, group means are shown.
c. Study Day 87. For controls, group means are shown. There were no statistically significant differences between the control and treated groups.
d. No test item-related changes in microscopic observations were observed at the end of the dosing period; therefore no tissues were examined from recovery animals.
e. Day 25 of the recovery period. For controls, group means are shown. There were no statistically significant differences between the control and treated groups.
f. Day 28 of the recovery period. For controls, group means are shown. There were no statistically significant differences between the control and treated groups.

2.6.7.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書の題名：Thirty-Nine Week Oral (Capsule) Toxicity Study of A-1325912 Free Form in Beagle Dogs with an Eight Week Recovery Period

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Species/Strain:	Beagle dog	**Duration of Dosing:**	280-282 consecutive days	**Report Number:**	R&D/13/172
				CTD Location:	4.2.3.2-PIB-10
Initial Age:	10 to 11 months	**Duration of Postdose:**	8 weeks	**Study Number**	TB13-008
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (formulation in capsule)	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Phosal 53 MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40 (40:20:20:20 w/w)

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day

2.6.7.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/172（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**3**	**10**	**100**	**0 (Vehicle)**	**3**	**10**	**100**
Number of Animals	**M:6**	**M:4**	**M:4**	**M:6**	**F:6**	**F:4**	**F:4**	**F:6**
Number of Animals per Timepoint	**M:6**	**M:4**	**M:4**	**M:6**	**F:6**	**F:4**	**F:4**	**F:6**
Toxicokinetics: Day 280								
Day 280: C_{max} (µg/mL)	BLOQ	0.349	0.702	1.83	BLOQ	0.529	1.49	2.01
Day 280: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)	BLOQ	4.26	8.35	25.5	BLOQ	5.14	19.1	24.9
Number of Animals, Dosing Phase	M:6	M:4	M:4	M:6	F:6	F:4	F:4	F:6
Noteworthy Findings:								
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Reticulocytes [a]	+1	+18	-7	-18	+43	-18	+44	-37
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Main Study Animals	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Macroscopic Tissue Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験－報告書番号 R&D/13/172（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Sex	Males				Females			
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**3**	**10**	**100**	**0 (Vehicle)**	**3**	**10**	**100**
Number of Animals, Recovery Phase	**M:2**	**M:0**	**M:0**	**M:2**	**F:2**	**F:0**	**F:0**	**F:2**
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Food Consumption	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Electrocardiographic Examination	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Urinalysis	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Macroscopic Tissue Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Microscopic Tissue Observations [b]	NE	NA	NA	-	NE	NA	NA	-

2.6.7.7.6 ピブレンタスビルの反復投与毒性試験ー報告書番号 R&D/13/172（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
NE	Not examined
NA	Not applicable
-	No noteworthy findings

a. Mean values at end of dosing phase (Day 277) expressed as percent of change within each group relative to respective mean baseline value.

b. Microscopic examination of tissues for recovery phase animals was limited to gross lesions (one high dose male, one high dose female), due to the absence of test item-related microscopic changes observed at the end of the dosing phase.

2.6.7.8 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験ー報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay with A-1282576 Free Form

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:**	1	**Report Number:**	R&D/12/270
				CTD Location:	4.2.3.3.1-GLE-1
Species/Strain:	*S. typhimurium, E. coli*	**No. of Replicate Plates:**	3	**Study Number**	TX11-283 [redacted] AD44TC.504002.BTL
Metabolizing System:	Aroclor™ 1254-induced rat liver S9			**GLP Compliance:**	Yes
Vehicles:	**For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:**		DMSO, except water for sodium azide	
Treatment:	Pre-incubation - 37°C for 60 minutes			**Date of Treatment:**	[redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

2.6.7.8.1 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書番号：R&D/12/270（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Without Activation	DMSO	50 µL	24 ± 11	80 ± 12	8 ± 2	10 ± 3	15 ± 6
	Glecaprevir	15 µg	28 ± 1	85 ± 8	13 ± 5	6 ± 1	16 ± 8
		50 µg	24 ± 6	72 ± 7	10 ± 1	7 ± 3	12 ± 6
		150 µg	28 ± 4	83 ± 8	14 ± 1	9 ± 2	15 ± 4
		500 µg	19 ± 4	64 ± 6	7 ± 3	7 ± 3	11 ± 2
		1500 µg	18 ± 3	75 ± 12	10 ± 3	5 ± 1	14 ± 5
		5000 µg[a]	16 ± 1	67 ± 7	11 ± 5	6 ± 2	8 ± 2
	2NF	1.0 µg	1733 ± 69				
	SA	1.0 µg		507 ± 6	498 ± 48		
	9AAD	75 µg				100 ± 31	
	MMS	1000 µg					382 ± 41

Key to Positive Controls
2NF 2-nitrofluorene
SA sodium azide
9AAD 9-aminoacridine
MMS methyl methanesulfonate
a. Precipitate

2.6.7.8.1 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験ー報告書番号：R&D/12/270（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
With Activation	DMSO	50 µL	27 ± 5	82 ± 22	7 ± 2	8 ± 5	20 ± 5
	Glecaprevir	15 µg	31 ± 5	80 ± 6	3 ± 1	9 ± 1	30 ± 6
		50 µg	29 ± 6	72 ± 3	3 ± 2	6 ± 3	31 ± 7
		150 µg	24 ± 9	88 ± 8	6 ± 2	7 ± 3	37 ± 4
		500 µg	25 ± 7	79 ± 8	4 ± 1	6 ± 5	29 ± 3
		1500 µg	18 ± 3	76 ± 6	4 ± 1	7 ± 4	36 ± 9
		5000 µg[a]	22 ± 4	80 ± 10	7 ± 3	6 ± 2	24 ± 12
	2AA	1.0 µg	560 ± 21		44 ± 3	90 ± 15	
	2AA	2.0 µg		780 ± 45			
	2AA	15 µg					277 ± 37

Key to Positive Controls

2AA2-aminoanthracene

a. Precipitate

2.6.7.8.2　　グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Mouse Lymphoma Assay　No Studies Conducted

2.6.7.8.3 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test with A-1282576 Free Form

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**No. of Independent Assays:**	1	**Report Number:**	R&D/12/271
				CTD Location:	4.2.3.3.1-GLE-2
Strains:	Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)	**No. of Replicate Cultures:**	2	**Study Number**	TX11-284 [redacted] AD44TC.341.BTL
Metabolizing System:	Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	A-1282576: 100 for structural, 100 for numerical; Positive controls: 50 for structural, 100 for numerical		
Vehicles:	**For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:**	Water (MMC, CP)	**GLP Compliance:**	Yes
Exposure:	20 hr without S9; 4 hr with 16 hr recovery period with and without S9		**Date of Treatment:**	[redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)	
Cytotoxic Effects:	Reduction in mitotic index in all three treatment conditions.				
Genotoxic Effects:	None				

DMSO: Dimethyl sulfoxide
MMC: Mitomycin C
CP: Cyclophosphamide

2.6.7.8.3 グレカプレビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験ー報告書番号：R&D/12/271（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Concentration µg/mL	Cytotoxicity[a] (% of Control)	Aberrant Cells		Aberrations per Cell[b,d]	Total Polyploid Cells (Mean %)[e]
				Structural (Mean %)[b]	Numerical (Mean %)[c]		
20-hr Continuous Exposure Without Activation	DMSO	NA	100	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	Glecaprevir	20	92	0.0	0.0	0.005 ± 0.071	0.0
	Glecaprevir	40	82	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	Glecaprevir	60	49	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	MMC	0.3	45	20.0**	0.0	0.230 ± 0.489	0.0
4-hr Exposure with 16 hr Recovery Without Activation	DMSO	NA	100	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	Glecaprevir	150	88	0.0	0.0	0.020 ± 0.140	0.0
	Glecaprevir	200	61	0.5	0.5	0.015 ± 0.122	0.5
	Glecaprevir	256	46	0.5	0.0	0.010 ± 0.100	0.0
	MMC	0.6	39	23.0**	0.0	0.370 ± 0.597	0.0
4-hr Treatment with 16 hr Recovery With Activation	DMSO	NA	100	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	Glecaprevir	100	90	0.5	0.0	0.010 ± 0.100	0.0
	Glecaprevir	150	74	0.0	0.0	0.020 ± 0.140	0.0
	Glecaprevir	185	44	0.5	0.0	0.020 ± 0.223	0.0
	CP	5	53	19.0**	0.0	0.140 ± 0.349	0.0

DMSO: Dimethyl sulfoxide; MMC: Mitomycin C; CP: Cyclophosphamide; NA: Not Applicable; Fisher's Exact Test: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

a. Based on mitotic index at least 500 cells analyzed.
b. Does not include cells with only gaps.
c. Includes polyploid and endoreduplicated cells.
d. Severely damaged cells counted as 10 aberrations.
e. Does not include endoreduplicated cells.

2.6.7.8 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験ー報告書の題名：Salmonella E. Coli/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacterial cells	**Number of Independent Assays:**	1	**Report Number:**	R&D/12/269
				CTD Location:	4.2.3.3.1-PIB-1
Strains:	S. typhimurium and E. coli	**Number of Replicate Plates:**	3	**Study Number**	TX12-012 [redacted]12-100
Metabolizing System:	Aroclor-induced rat liver S9	**Number of Cells Analyzed/Culture:**			NA
Vehicles:	**For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:**	DMSO	**GLP Compliance:**	Yes
Treatment:	Preincubation for 20 minutes followed by plate for 2 days			**Date of Treatment:**	[redacted]-20[redacted]

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

2.6.7.8.1 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験ー報告書番号：R&D/12/269（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

			Mean Revertant Colony Count ± Standard Deviation				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**TA98 (Mean ± SD)**	**TA100 (Mean ± SD)**	**TA1535 (Mean ± SD)**	**TA1537 (Mean ± SD)**	**WP2uvrA (Mean ± SD)**
Without Activation	DMSO	50 µL	12 ± 4	92 ± 5	16 ± 1	5 ± 3	11 ± 3
	A-1325912	25	7 ± 2	99 ± 19	18 ± 3	4 ± 1	18 ± 2
		50	10 ± 4	84 ± 2	16 ± 8	3 ± 0	9 ± 2
		100	9 ± 2	84 ±6	16 ± 1	3 ± 2	20 ± 8
		250	15 ± 4	89 ± 18	21 ± 7	7 ± 2	12 ± 1
		500	7 ± 3	98 ± 9	20 ± 5	4 ± 0	12 ± 3
		1000[b]	13 ± 3	113 ± 22	15 ± 6	5 ± 3	14 ± 6
		2500[b]	12 ± 2	95 ± 18	22 ± 4	6 ± 1	16 ± 5
		5000[b]	8 ± 2	86 ± 8	17 ± 5	3 ± 2	11 ± 1
	PC[a]	—	405 ± 32	618 ± 17	441 ± 9	522 ± 9	471 ± 48

a. Positive controls are 2-nitrofluorene at 2.5 µg/plate (TA98); sodium azide at 1.0 µg/plate (TA100 & TA1535); ICR-191 acridine at 0.5 µg/plate (TA1537); and 4-Nitroquinoline-N-oxide at 2.0 µg/plate (WP2uvrA)

b. Test article precipitates present

Abbreviations: DMSO - Dimethylsulfoxide; SD - Standard deviation; PC - Positive control

2.6.7.8.1 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書番号：R&D/12/269（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

			Mean Revertant Colony Count ± Standard Deviation				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**TA98 (Mean ± SD)**	**TA100 (Mean ± SD)**	**TA1535 (Mean ± SD)**	**TA1537 (Mean ± SD)**	**WP2uvrA (Mean ± SD)**
With Activation	DMSO	50 µL	13 ± 9	89 ± 11	17 ± 6	4 ± 1	15 ± 2
	A-1325912	25	17 ± 3	91 ± 5	19 ± 2	5 ± 2	10 ± 3
		50	18 ± 2	96 ± 5	16 ± 6	3 ± 1	15 ± 6
		100	12 ± 3	98 ± 2	24 ± 6	2 ± 2	16 ± 5
		250	15 ± 3	94 ± 10	20 ± 3	3 ± 3	17 ± 9
		500	13 ± 4	88 ± 2	22 ± 3	3 ± 1	15 ± 6
		1000	14 ± 6	97 ± 10	25 ± 2	4 ± 1	12 ± 5
		2500[b]	19 ± 7	111 ± 6	18 ± 2	5 ± 2	18 ± 10
		5000[b]	15 ± 2	86 ± 1	16 ± 5	5 ± 1	9 ± 4
	PC[a]	—	1002 ± 93	1363 ± 89	184 ± 34	115 ± 20	309 ± 19

a. Positive controls are 2-aminoanthracene at 2.5 µg/plate (TA98, TA100, TA1535 & TA1537); and at 10.0 µg/plate (WP2uvrA)

b. Test article precipitates present

Abbreviations: DMSO - Dimethylsulfoxide; SD - Standard deviation; PC - Positive control

2.6.7.8.2 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vitro Chromosome Aberration Test in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**Number of Independent Assays:**	3	**Report Number:**	R&D/12/265
				CTD Location:	
Strains:	Human peripheral blood lymphocytes (HPBL)	**Number of Replicate Cultures:**	2	**Study Number:**	TX12-013 [redacted]12-101
Metabolizing System:	Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	100		
Vehicles:	**For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:**	DMSO	**GLP Compliance:**	Yes

Treatment: Continuous treatment for 22-h without S9; pulse treatment for 3-h with and without S9. All cultures harvested at 22-h. **Date of Treatment:** [redacted]-20[redacted]

Cytotoxic Effects: Reduced mitotic index.

Genotoxic Effects: None

Abbreviations: CP - Cyclophosphamide; MI - Mitotic index; MMC - Mitomycin C; DMSO - Dimethylsulfoxide.

2.6.7.8.2 ピブレンタスビルの *In Vitro* 遺伝毒性試験－報告書番号：R&D/12/265（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Treatment Time/Harvest Time (h)	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of Control)	Aberrant Cells (Mean %)	Aberrations/ Cell	Polyploid Cells (Mean %)
			Assay 1				
Without Activation	22/22	DMSO	1%	100	1.5	0.02	0.0
		A-1325912	7.81	46	0.0	0.00	0.0
			125	100	0.0	0.00	0.0
			250[b]	82	0.0	0.00	0.3
		MMC	0.3	55	68.2*	1.30	0.3
			Assay 2				
With Activation	3/22	DMSO	1%	100	0.5	0.01	0.0
		A-1325912	15.6	98	1.0	0.01	0.8
			125	75	0.5	0.01	0.0
			250[b]	99	3.5	0.04	0.0
		CP	20	83	18.5*	0.22	0.0
			Assay 3				
Without Activation	3/22	DMSO	1%	100	1.0	0.01	0.5
		A-1325912	15.6	89	2.0	0.02	0.0
			125	66	2.0	0.02	0.5
			250[b]	60	2.0	0.02	0.5
		MMC	0.6	53	76.9*	>1.59	0.3

* $p < 0.01$, Fisher's exact test.

a. Based on mitotic index (% of control MI).

b. Precipitates observed at end of treatment.

Abbreviations: CP - Cyclophosphamide; MI - Mitotic index; MMC - Mitomycin C; DMSO - Dimethylsulfoxide.

2.6.7.9 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：Unscheduled DNA Synthesis No Studies Conducted

2.6.7.9.2 グレカプレビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vivo Micronucleus Assay in Rats with A-1282576 Free Form

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of: Micronuclei in bone marrow
Treatment Schedule: Single Dose
Report Number: R&D/13/002
CTD Location: 4.2.3.3.2-GLE-1
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley (SD)
Sampling Times: 24 and 48 hours post-dose
Study Number TA12-188 [redacted] AD61FP.125M0121CH.BTL
Age/weight: 7 weeks
211.2-240.0 grams
Method of Administration: Oral gavage
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCE)
Vehicle for Test Article: PEG 400: Tween 20: Poloxamer-124 (70:20:10 %w/w); 10 mL/kg
Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]
Vehicle for Positive Control: Sterile water for injection; 10 mL/kg
No. of Cells Analyzed/Animal: 1000 (PCEs + NCEs) for bone marrow proliferation, 2000 PCEs for micronuclei screening
GLP Compliance: Yes
Toxic/Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: Present

			Micronucleus Test			
			PCEs/EC Ratio (Mean ± SD)		mnPCEs/Total PCEs/Group	
Controls/Test Article	Dose (mg/kg)	No./Sex of Animals	24	48	24	48
Vehicle*	0	5/Male	0.577 ± 0.04	0.529 ± 0.04	1/10,000	0/10,000
Glevaprevir	500	5/Male	0.540 ± 0.04	NA	3/10,000	NA
Glecaprevir	1000	5/Male	0.547 ± 0.05	NA	1/10,000	NA
Glecaprevir	2000	5/Male	0.542 ± 0.05	0.375 ± 0.04	2/10,000	3/10,000
Cyclophosphamide	40	5/Male	0.522 ± 0.07	NA	**190/10,000	NA

PCE = Polychromatic erythrocytes; EC = Total erythrocytes MnPCE = Micronucleated polychromatic erythrocyte; SD = Standard Deviation.
NA = Not Applicable; NCE = Normochromatic Erythrocytes.
*PEG 400: Tween 20: Poloxamer-124 (70:20:10 by weight)
**Statistically significant increase compared to the vehicle control, $p \leq 0.05$ (Binomial Distribution, Kastenbaum-Bowman Tables).

2.6.7.9 ピブレンタスビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 ピブレンタスビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書の題名：In Vivo Mouse Bone Marrow Micronucleus Assay with A-1325912 Free Form

Test Article: ABT-530 (A-1325912) Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Bone-marrow micronuclei	**Treatment Schedule:**	One dose	**Report Number:**	R&D/13/014
				CTD Location:	4.2.3.3.2-PIB-1
Species/Strain:	Mouse/CD®-1	**Sampling Time:**	24 and 48 hours after dosing	**Study Number:**	TD12-189 [redacted] 8275675
Age:	6-weeks	**Method of Administration:**	Oral gavage (10 mL/kg)	**Testing Facility:**	[redacted]
Cells Evaluated:	Polychromatic erythrocytes	**Vehicle/Formulation:**	Vehicle control = Phosal® 53 MCT: Polyethylene glycol 400 (PEG-400): Poloxamer 124: Cremophor®RH40 (40:20:20:20)		
No. of Cells Analyzed/Animal:	2000 PCEs	**Date of Dosing:**	[redacted] 20[redacted]	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	None				

Toxic/Cytotoxic Effects: A-1325912 induced a small, but not statistically significant decrease of the PCE:NCE ratio in the high dose 48-hour timepoint animals.

Genotoxic Effects: A-1325912 induced a statistically significant increase in the mean percent micronucleated PCEs at the highest dose treated (2000 mg/kg) in the 48-hour timepoint animals. This was not considered to be biologically significant since the mean percent micronucleated PCE in the high dose animals (0.11 ± 0.05%) was within the historical vehicle control range (0.0-0.20%).

Evidence of Exposure: Plasma concentrations as per TK report

2.6.7.9.1 ピブレンタスビルの *In Vivo* 遺伝毒性試験－報告書番号：R&D/13/014（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912) Lot Number: [redacted]

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of Animals	Harvest Time	% Micronucleated PCEs Mean of 2000 per Animal ± S.D.	Ratio PCE:NCE Mean ± S.D.
Vehicle control	10 mL/kg	5M	24 Hr	0.03 ± 0.04	0.72 ± 0.15
Vehicle control	10 mL/kg	5M	48 Hr	0.04 ± 0.02	0.73 ± 0.13
A-1325912	500	5M	24 Hr	0.06 ± 0.02	0.77 ± 0.16
	1000	5M	24 Hr	0.09 ± 0.04	0.71 ± 0.13
	2000	5M	24 Hr	0.09 ± 0.05	0.79 ± 0.15
	2000	5M	48 Hr	0.11 ± 0.05**	0.65 ± 0.19
Cyclophosphamide	80	5M	24 Hr	4.05 ± 1.22*	0.70 ± 0.07

* Significantly greater than the corresponding vehicle control, $p \leq 0.01$ (Dunnett's Test).

** Significantly greater than the corresponding vehicle control, $p \leq 0.05$ (Dunnett's Test).

PCE = Polychromatic erythrocyte

NCE = Normochromatic erythrocyte

M = Male

2.6.7.10 グレカプレビルのがん原性試験－No Studies Conducted

2.6.7.10 ピブレンタスビルのがん原性試験－No Studies Conducted

2.6.7.11 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験－No Studies Conducted

2.6.7.11 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験

Test Article: ABT-530 (A-1325912)

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	Number per Group	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Rabbit New Zealand White	Oral gavage (Phosal 53MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20, by weight))	GD7-19	0, 10, 100	3F	One rabbit in the 100 mg/kg group was found dead the cause of death was related to a gavage error. One of the remaining rabbits in the 100 mg/kg group exhibited body weight loss, scant feces and a concomitant decrease in food consumption when compared to the control group. Based on the limited number of animals evaluated, the relationship of this finding to pibrentasvir was uncertain.	R&D/13/958 (4.2.3.5.2-PIB-3)
Rabbit New Zealand White (non-pregnant)	Intravenous Infusion (PEG-300: D5W: Tween 80 (89.5:10:0.5, v/v/v)	10 days	2.5, 5, 10	3 F	Injection site reactions (ear discoloration) were observed in all animals. Rabbits in the 10 mg/kg group also exhibited an increased incidence of swelling (generalized and localized) of the ears.	R&D/13/248 (4.2.3.5.2-PIB-5)

2.6.7.11 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912)

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	Number per Group	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Rabbit New Zealand White [Hra:(NZW) SPF] (pregnant)	Intravenous Infusion (PEG-300: D5W: Tween 80 (89.5:10:0.5, v/v/v)	Gestation Days 7-19	2, 5, 10	10F	Severe injection site reactions were observed across all dose groups. Control and pibrentasvir-dosed rabbits exhibited body weight loss/decreased body weight gain and concomitant decreases in food consumption. The general health and well-being of all rabbits declined with repeated dosing, resulting in mortality or abortions and early termination of the study on GD 23 or GD 24. Therefore, no valid fetal examinations could be performed.	R&D/13/321 (4.2.3.5.2-PIB-6)

2.6.7.12 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.7.12.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Fertility Study with A-1282576 in Rats

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rat/CD®[Crl:CD®(SD)]	**Duration of Dosing:**	**M:** 14 days prior to pairing to study termination	**Report Number:**	R&D/14/0683
				CTD Location:	4.2.3.5.1-GLE-1
Initial Age:	Approximately 10 weeks at initiation of dosing		**F:** 14 days prior to pairing to GD 7	**Study Number**	TA14-066 [redacted] 2100-105
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Day of Mating:**	GD 0		
Special Features:	None	**Day of C-Section:**	GD 13		
		Method of Administration:	Oral Gavage, BID	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation:	PEG 400: Tween 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 2 mL/kg/dose		

No-Observed-Adverse-Effect Level:

Reproductive performance and fertility: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

2.6.7.12.1　グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/14/0683（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	40	120
Males				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Mean Copulatory Interval (Days)	3.9	3.0	3.1	2.7
No. of Males Mated	25	25	24	24
No. of Males Impregnating a Female	24	23	24	23
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.12.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/14/0683（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	40	120
Females				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund [b]	1	0	1	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Premating Body Weight Change	-	-	-	-
Gestation Body Weight Change	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Mean Cycle Length (Days)	4.8	4.9	4.3	4.8
No. of Cycles (Count)	2.5	2.5	2.6	2.4
Mean Copulatory Interval (Days)	3.9	3.0	3.1	2.7
No. of Females with Confirmed Mating Day	23	24	23	25

2.6.7.12.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/14/0683（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	40	120
Females				
Cesarean Section Observations				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Pregnant	24	23	24	24
No. not pregnant	1	2	1	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Number of females with viable embryos on GD 13	21	22	23	24
Number of females with no confirmed mating date	2	1	1	0
Mean No. Corpora Lutea	15.6	15.5	16.0	15.5
Mean No. Implantation Sites	14.8	14.9	14.8	14.3
Mean % Preimplantation Loss	4.77	4.13	7.45	8.33
Mean No. Viable Embryos	14.1	14.3	14.4	13.6
Mean % Postimplantation Loss	4.33	3.53	2.46	4.93
Mean No. Early + Late Resorptions	0.6	0.5	0.4	0.7

2.6.7.12.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/14/0683（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
GD	Gestation Day
No.	Number
PEG	Polyethylene Glycol
-	No noteworthy findings

a. One 120 mg/kg/day male was found dead on Study Day 34 (mating period). This death was not considered test article related.

b. One control female was found dead on Study Day 27 (GD 8). Its death was related to an intubation error. One 40 mg/kg/day female was found dead on Study Day 19 (mating period). This death was not considered test article related.

2.6.7.12 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.7.12.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Fertility Study with A-1282576 in Rats

Test Article: A-1325912, Lot Number: [redacted]

Duration of Dosing:
M: 14 days prior to mating through the day before euthanasia (34-36 doses)
F: 14 days prior to mating through Gestation Day 6 (22-30 doses)

Report Number: R&D/14/0682
CTD Location: 4.2.3.5.1-PIB-1
Study Number: TD14-107 [redacted] 20057954

Species/Strain:	Mouse/Crl:CD1(ICR)	**Day of Mating:**	Gestation Day 0
Initial Age:	**Females:** 82 days (first dose) **Males:** 82 days (first dose)	**Day of C-Section:**	Gestation Day 13
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage (2 mL/kg)
Special Features:	Male toxicokinetics	**Vehicle/Formulation:**	Phosal 53MCT: PEG-400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)

No-Observed-Adverse-Effect Level:

F_0 Males: 100 mg/kg/day
F_0 Females: 100 mg/kg/day
F_1 Litters: 100 mg/kg/day

2.6.7.12.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験一報告書番号：R&D/14/0682（続き）

Test Article: A-1325912, Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Males				
Toxicokinetics of A-1325912				
Day 35/36 C_{max} (µg/mL)	BLOQ	1.01	3.54	6.95
Day 35/36 AUC_{0-24h} (µg•hr/mL)	BLOQ	21.2	69.1	153
Main Study				
No. Evaluated	30	30	30	30
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Organ Weight	-	-	-	-
Mean No. Days prior to mating	2.9	2.8	2.5	2.5
No. of males that mated	29[a]	30	29[a]	30
No. fertile males	29	28	28	30
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.12.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/14/0682（続き）

Test Article: A-1325912, Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Females				
No. Evaluated	30	30	30	30
No. Died or Sacrificed Moribund	1 [b]	0	1 [c]	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating estrous cycling	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Premating Body Weight	-	-	-	-
Premating Body Weight Change	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight Change	-	-	-	-
Premating Food Consumption	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Mean No. Estrous Cycles/14 Days	2.4	2.5	2.3	2.7
Mean No. Days prior to mating	2.9	2.8	2.5	2.5
No. of Females Sperm Positive	29	30	29	30
No. of Pregnant Females	29	28	28	30
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0

2.6.7.12.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/14/0682（続き）

Test Article: A-1325912, Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Females				
Mean No. Corpora Lutea	13.3	13.6	12.8	13.5
Mean No. Implantations	13.2	13.2	12.5	13.2
Mean % Preimplantation Loss	0.4	2.6	2.5	2.1
Mean No. Viable Embryos	13.0	12.2	11.7	12.4
Mean No. Nonviable Embryos	0.3	1.1	0.8	0.8
Mean % Postimplantation Loss	2.0	8.0	6.8	5.9

2.6.7.12.1　ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/14/0682（続き）

Test Article:　A-1325912, Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
-	No noteworthy findings
BLOQ	Below limit of quantitation
No	Number

a. Male excluded due to lack of corresponding female available for mating.

b. One mouse in the 0 mg/kg group was euthanized prior to mating on Study Day 2, due to handling related trauma.

c. One mouse in the 10 mg/kg group was euthanized prior to mating on Study Day 8 due to gavage error.

2.6.7.13 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名

2.6.7.13.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rats with a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	NOAEL[a] (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)	Study Number
Rats/ CD® [Crl:CD® (SD)]	Gavage (polyethylene glycol (PEG) 400: Tween® 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w))	GD 6 through 18	0, 5, 20, or 60 mg/kg/dose (BID) (10, 40, or 120 mg/kg/day	Ten time-mated females/group	120 (maternal and developmental/fetal)	None	R&D/12/943 (4.2.3.5.2-GLE-1)	TA12-144 [redacted] 2100-012

a. No-Observed-Adverse-Effect Level

This study was a GLP study and fetal external and visceral evaluations were performed.

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Developmental Toxicity Study in Rats, Including a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: CD® [Crl:CD® (SD)] rat

Dosing Period: GD 6 to 18

Report Number: R&D/13/913

CTD Location: 4.2.3.5.2-GLE-2

Initial Age: Approximately 8 to 10 weeks at receipt

Day of Mating: GD 0

Study Number TA13-168
[redacted] 2100-025

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Day of Cesarean Section: GD 20

Method of Administration: Oral gavage (BID)

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: PEG 400: Tween®20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w); 2 mL/kg/dose

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level:

F0 Females: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

F1 Litters: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) [a]	10	40	120
Number of TK Animals	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetics: [b,c]			
Mean Maternal AUC_{0-24h} (µg•hr/mL)			
GD 6	25.3	261	1030
GD 17	55.9	318	559
Mean Maternal C_{max} [1] (µg/mL)			
GD 6	2.58	18.0	85.0
GD 17	4.48	23.2	52.2
Mean Maternal C_{max} [2] (µg/mL)			
GD 6	5.06	35.9	116
GD 17	6.96	35.3	66.8

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) [a]	10	40	120
Number of TK Animals	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetics: [b] (Cont.)			
Fetal/Dam Concentration Ratio GD 18			
Fetal 2h (µg/mL)	1.48	6.89	17.3
Dam 2h (µg/mL)	6.79	40.3	64.4
Mean Ratio	0.227	0.194	0.268

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) [a]	0	10	40	120
Dams				
No. of Study Animals	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight Change	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Gravid Uterine Weight	-	-	-	-
Adjusted Body Weight from GD 0	-	-	-	-
Adjusted Body Weight Change from GD 6	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) [a]	0	10	40	120
Dams				
Cesarean Section Observations				
No. Females evaluated/pregnant	25	25	25	25
No. Not Pregnant	0	0	0	0
No. Died Pregnant	0	0	0	0
Pregnancy Index (%)	100	100	100	100
No. Females with All Resorptions	0	0	0	0
No. Females with Viable Fetuses GD 20	25	25	25	25
Mean No. Corpora Lutea	14.4	15.6	15.8	14.7
Mean No. Implantation Sites	12.5	13.0	13.2	12.9
Mean % Preimplantation Loss	11.54	15.15	14.84	10.90
Mean No. Viable Fetuses	11.7	12.2	12.7	12.3
Mean Fetal Sex Ratio (% Males)	48.5	49.1	50.8	51.2
Mean % Postimplantation Loss	6.34	6.60	3.93	4.50
Mean No. Nonviable Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Litter Size (Mean No. per Animal)	11.7	12.2	12.7	12.3
Mean No. Early + Late Resorptions	0.8	0.8	0.5	0.6
Mean No. Early Resorptions	0.8	0.8	0.5	0.5
Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.1

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) a	0	10	40	120
Litters				
No. Litters/Fetuses Evaluated	25/293	25/306	25/318	25/307
Mean Fetal Body Weight [d] (Males) (g)	4.22	4.27	4.24	4.34
Mean Fetal Body Weight [d] (Females) (g)	4.03	4.08	4.02	4.10
Mean Fetal Body Weight [d] (Males + Females) (g)	4.13	4.18	4.13	4.23
Fetal Observations				
External Malformations/Variations	-	-	-	-
(No. affected litters/No. affected fetuses) [e]				
No. litters/fetuses evaluated	25/293	25/306	25/318	25/307
Body edema	1/1	0/0	0/0	0/0
Brachydactyly forelimb	1/1	0/0	0/0	0/0
Ectrodactyly forelimb	1/1	0/0	0/0	0/0
Ectrodactyly forelimb	1/1	0/0	0/0	0/0
Ectrodactyly hind limb	1/1	0/0	0/0	0/0
Malrotated hind limb	1/1	0/0	0/0	0/0
Nail absent	1/1	0/0	0/0	0/0
Tail constricted	2/2	0/0	0/0	0/0
Tail bent	2/2	0/0	0/0	0/0

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) a	0	10	40	120
Visceral Malformations/Variations	-	-	-	-
(No. affected litters/No. affected fetuses) [c]				
No. litters/fetuses evaluated	25/143	25/153	25/160	25/153
Increased pelvic cavitation	2/2	1/1	2/2	0/0
Dilated ureter	1/1	0/0	1/1	0/0
Small Thyroid	0/0	0/0	0/0	1/1
Skeletal Malformations/Variations	-	-	-	-
(No. affected litters/No. affected fetuses) [c]				
No. litters/fetuses evaluated	25/150	25/15	25/158	25/154
Cervical neural arches additional ossification	4/4	1/1	1/1	5/6
Cervical neural arches fused	2/2	0/0	0/0	0/0
Cervical neural arches misshapen	1/1	0/0	0/0	0/0
Bent femur	1/1	0/0	0/0	0/0
Short fibula	1/1	0/0	0/0	0/0
Misshapen tibia	1/1	0/0	0/0	0/0
Lumbar Neural arches absent	1/1	0/0	0/0	0/0
Lumbar Neural arches fused	1/1	0/0	0/0	0/0
Scapula irregular	1/1	0/0	0/0	2/2

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day) [a]	0	10	40	120
Rib cartilage fused	1/1	0/0	0/0	0/0
Rib absent	1/1	0/0	0/0	0/0
Rib bent	0/0	1/1	1/1	0/0
Rib misshapen	2/2	0/0	0/0	0/0
Rib rudimentary	3/7	4/7	4/4	6/7
Rib smaller than normal	4/6	1/1	4/6	0/0
Sacral vertebrae absent	1/1	0/0	0/0	0/0
Fused sternum	1/1	0/0	1/2	0/0
Sternebrae misaligned	3/3	0/0	2/2	2/2
Thoracic vertebrae fused	1/1	0/0	0/0	0/0

2.6.7.13.2 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/913（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BID	Twice a day dosing
GD	Gestation Day
NA	Not applicable
No.	Number
TK	Toxicokinetic
-	No noteworthy findings

a. The vehicle and test article were administered twice per day (approximately six hours apart) from GD 6 to 18.

b. Group means are shown.

c. C_{max}[1] refer to the highest individual concentration in the period following the first of the two daily doses and C_{max}[2] refer to the highest individual concentration in the period following the second of the two daily doses.

d. Least square mean.

e. There were no test item-related fetal gross external, visceral or skeletal examination findings.

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験ー報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: Rabbit/New Zealand White Hra:(NZW)SPF

Initial Age: 6 months

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Special Features: None

Dosing Period: GD 7 through 19

Day of Mating: GD 0

Day of Cesarean Section: GD 29

Method of Administration: Oral gavage

Vehicle/Formulation: Polyethylene glycol (PEG) 400: Tween® 20: Poloxamer 124 (70:20:10, %w/w)

Report Number R&D/12/988 (4.2.3.5.2-GLE-3)

Study Number TE12-178 [redacted] 2100-014

GLP Compliance: Yes

No-Observed-Adverse-Effect Level:

F0 Females: Not established due to maternal toxicity in all treated groups

F1 Litters: Not established due to limited number of litters evaluated due to maternal toxicity

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
Number of toxicokinetic Animals	3	3	3
Does: GD 17/18 [a]			
Mean AUC (µg•hr/mL)	NA	2.32	6.64
Mean C_{max} (µg/mL)	NA	0.164	3.63
Fetal/Dam Ratio on GD 19 at 2 hours postdose	NA	0	NA a,d

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
No. of Study Animals	10	10	10
No. Pregnant	9	8	8
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	8
No. Abortions	0	3	0
No. Early Deliveries	1	0	0
Clinical Observations[b]			
Feces			
Few or absent	31/8	57/5	50/10
Mucoid	1/1	6/1	0/0
Soft	62/10	73/9	40/9
Watery	24/4	7/3	7/3
Thin appearance	1/1	5/2	0/0
Hair, discolored			
Black, anogenital region	0/0	0/0	6/1
Brown, anogenital region	99/9	68/6	15/4
Hair, sparse			
Anogenital region	0/0	12/1	0/0
Axillary region/left	0/0	10/1	0/0
Axillary region/right	0/0	6/1	0/0
Ear, scabbed area, left	5/1	5/1	0/0

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
Dose (cont.):			
Necropsy Observations Body Weight (% [c])			
GD 19	3.372 g	-1.84%	NA
Food Consumption (% [c])			
GD 7-19	85.7 g/day	-0.35	-58.8*
Mean No. Corpora Lutea	11.5	11.4	[d]
Mean No. Implantations	9.9	8.2	[d]
Mean % Preimplantation Loss	14.32	29.28	[d]
Gravid Uterine Weight (grams)	464	425	[d]

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験一報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
Litters:			
No. Litters Evaluated	8	5	[d]
No. Live Fetuses	66	40	[d]
Mean No. Resorptions			[d]
Early + Late	1.6	0.2	[d]
Early	1.4	0.0	[d]
Late	0.3	0.2	[d]
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	[d]
Mean % Postimplantation Loss	13.8	2.50	[d]
Mean Sex-combined Fetal Body Weight (g)	39.6	39.5	[d]
Fetal Sex Ratios (% males)	56.4	50.3	[d]
Fetal Gross External Anomalies			
(No. affected litters/No. affected fetuses)	0/0	0/0	[d]

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
Litters:			
No. Litters Evaluated	8	5	[d]
No. Live Fetuses	66	40	
Fetal Visceral Anomalies			
Gallbladder, absent			[d]
No. litters (%)	0 (0)	2 (40.0)	[d]
No. fetuses (%)	0 (0)	3 (7.5)	[d]
Gallbladder, smaller than normal			[d]
No. litters (%)	2 (25.0)	1 (20.0)	[d]
No. fetuses (%)	2 (3.0)	1 (2.5)	[d]
Ureter, malpositioned			
No. litters (%)	2 (25.0)	0 (0 0)	[d]
No. fetuses (%)	2 (3.0)	0 (0 0)	[d]
Right lung, azygous lobe absent			
No. litters (%)	0 (0.0)	1 (20 0)	[d]
No. fetuses (%)	0 (0.0)	1 (2.5)	[d]
Fetal Gross External Anomalies			
(No. affected litters/No. affected fetuses)			
Malformations	0/0	0/0	[d]
Variations	0/0	0/0	[d]

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	300
Litters:			
No. Litters Evaluated	8	5	[d]
No. Live Fetuses	66	40	[d]
Fetal Gross External Anomalies			
(No. affected litters/No. affected fetuses)			
Malformations	0/0	2/3	[d]
Variations	3/4	2/2	[d]

2.6.7.13.3 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/12/988（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
GD	Gestation day
NA	Not applicable
No.	Number

GLOSSARY and ENDNOTES

-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$

a. Because of excessive toxicity (death, body weight loss, and reduced food consumption) observed from GD 7-17 at 300 mg/kg/day, toxicokinetic evaluation was completed on GD 17 and surviving animals at this dose level were euthanatized on GDs 17 and 18. Toxicokinetic evaluation at 50 mg/kg/day was completed on GD 18.

b. Values indicate number of times observed/total number of animals affected.

c. At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d. Due to the early termination of the 300 mg/kg/day group, data were not summarized.

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: Rabbit/New Zealand White Hra:(NZW)SPF

Initial Age: 8 months

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Special Features: None

Dosing Period: GD 7 through 19

Day of Mating: GD 0

Day of Cesarean Section: GD 29

Method of Administration: Oral gavage

Vehicle/Formulation: Ethyl alcohol (EtOH): polyethylene glycol 400 (PEG400): Phosal 53MCT (10:30:60, %w/w)

Report Number R&D/13/840 (4.2.3.5.2-GLE-4)

Study Number TE13-121 [redacted] 2100-059

GLP Compliance: Yes

No-Observed-Adverse-Effect Level:

F0 Females: 30 mg/kg/day

F1 Litters: 30 mg/kg/day

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
Number of toxicokinetic animals	0	3	3	3
Does: GD 7				
Mean AUC (µg•hr/mL)	NA	0.406	2.19	14.6
Mean C_{max} (µg/mL)	NA	0.114	0.679	4.93
No. of Study Animals	10	13	13	13
No. Pregnant	10	13	10	13
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	1

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Clinical Observations[a]				
Feces				
Few or absent	26/4	31/5	80/10	140/13
Mucoid	0/0	0/0	2/1	7/2
Soft	1/1	31/4	2/2	38/9
Material in pan/bedding				
Brown	0/0	0/0	0/0	1/1
Red	0/0	0/0	2/2	4/4
Urination decreased	0/0	0/0	13/2	25/4
Urine discolored				
Orange	0/0	0/0	16/5	38/8
Red	0/0	0/0	4/1	29/4
Thin appearance	0/0	0/0	8/1	26/3
Hair, discolored				
Brown, anogenital region	2/1	5/1	11/2	48/6
Red, anogenital region	0/0	0/0	0/0	1/1
Yellow, anogenital region	0/0	2/1	0/0	1/1
Brown, face	0/0	0/0	1/1	1/1
Hair, sparse				
Abdominal region	0/0	0/0	0/0	6/1
Anogenital region	0/0	0/0	0/0	7/1

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Clinical Observations				
Hair, sparse (cont.)				
Cervical region	0/0	0/0	0/0	7/1
Forefoot/left	0/0	0/0	6/1	0/0
Forefoot/right	0/0	1/1	6/1	0/0
Hind limb/left	0/0	0/0	10/1	0/0
Shoulder/left	0/0	0/0	0/0	7/1
Shoulder/right	0/0	0/0	0/0	7/1
Necropsy Observations	NA	NA	NA	NA
Body Weight (% [b])				
GD 19	3.66 kg	1.64	-5.19	-8.74
Food Consumption (% [b])				
GD 7 - 19	98.9 g/day	6.07	-19.9	-55.0**
Mean No. Corpora Lutea	10.2	9.8	9.9	10.2
Mean No. Implantations	9.0	8.8	9.0	9.6
Mean % Preimplantation Loss	13.1	10.1	8.37	6.08
Gravid Uterine Weight (g)	488	526	464	423

2.6.7.13.4　グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	30	100
Litters:				
No. Litters Evaluated	10	13	8	11
No. Live Fetuses	86	108	69	87
Mean No. Resorptions				
Early + Late	0.4	0.5	0.4	2.3*
Early	0.4	0.3	0.0	0.9
Late	0.0	0.2	0.4	1.4
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	3.98	4.65	4.26	24.39*
Mean Sex-combined Fetal Body Weight (g)	42.6	45.3	36.8*	36.1**
Fetal Sex Ratios (% male)	41.9	47.0	44.8	47.6
Fetal Gross External Anomalies:				
(No. affected litters/No. affected fetuses)	0/0	0/0	0/0	0/0

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	30	100
Fetal Visceral Anomalies				
Abdomen, fluid filled				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)	0 (0)
Gallbladder, absent				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.1)
Gallbladder, smaller than normal				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)	0 (0)
Kidney, white foreign material				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Ureter, malpositioned				
No. litter (%)	1 (10.0)	0 (0)	2 (25.0)	0 (0)
No. fetuses (%)	1 (1.2)	0 (0)	2 (2.9)	0 (0)
Ureter, white foreign material				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)

2.6.7.13.4　グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	30	100
Fetal Visceral Anomalies				
Urinary bladder, white foreign material				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Eye(s), hemorrhagic				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	1 (12.5)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)	0 (0)
Aortic arch, dilated				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Aortic arch, discontinuous				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.1)
Common carotid artery, arising from innominate artery				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.1)
Ductus arteriosus, absent				
No. litter (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)
No. fetuses (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.1)

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	30	100
Fetal Visceral Anomalies				
Ductus arteriosus, constricted				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Innominate artery, absent				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Interventricular septum, discontinuous				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Pulmonary trunk, constricted				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Pulmonary valve, absent				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Right lung, azygous lobe absent				
No. litter (%)	0 (0)	4 (30.8)	0 (0)	1 (9.1)
No. fetuses (%)	0 (0)	5 (4.6)	0 (0)	2 (2.3)

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0 (Control)	30	100
Fetal Visceral Anomalies				
Subclavian artery, retroesophageal				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Ventricle, larger than normal				
No. litter (%)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)	0 (0)
No. fetuses (%)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)
Fetal Gross External Anomalies				
(No. affected litters/No. affected fetuses)	0/0	0/0	0/0	0/0
Malformations				
Variations	0/0	0/0	0/0	0/0
Fetal Visceral Anomalies				
(No. affected litters/No. affected fetuses)	0/0	1/1	0/0	2/2
Malformations				
Variations	1/1	5/6	3/3	2/3

2.6.7.13.4 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/840（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
GD	Gestation day
NA	Not applicable
No.	Number
-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$

a. Values indicate number of times observer/total number of animals affected.

b. At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験ー報告書の題名：An Oral Range Finding Developmental Toxicity Study with A-1282576 in Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: New Zealand White Hra:(NZW)SPF rabbit

Dosing Period: GD 7 to 19

Report Number: R&D/13/679

CTD Location: 4.2.3.5.2-GLE-5

Initial Age: Approximately 5.5 to 6.5 months at receipt

Day of Mating: GD 0

Study Number TE13-250
[redacted] 2100-076

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Day of Cesarean Section: GD 29

Method of Administration: Oral gavage

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: EtOH: PEG 400: Phosal 53MCT (10:30:60, %w/w); 2 mL/kg

Special Features: None

No-Observed-Adverse-Effect Level:

Maternal/F0 Females: 60 mg/kg/day

Fetal/F1 Litters: 60 mg/kg/day

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Number of TK Animals	5	5	5
Toxicokinetics: [a]			
Mean Maternal AUC_{0-24} (µg•hr/mL)			
GD 18	NA	0.130	0.728
Mean Maternal C_{max} (µg/mL)			
GD 18	BLOQ	0.0125	0.0986
Fetal/Dam ratio GD 19	NA	0.00	0.00

2.6.7.13.5　グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Dams			
No. of Study Animals	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-
Gestation Body Weight Change	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Dams			
Cesarean Section Observations			
No. Females evaluated/pregnant	17	17	16
No. Not Pregnant	3	3	4
No. Died Pregnant	0	0	0
No. Females with All Resorptions	0	0	0
No. Females with Viable Fetuses GD 29	17	17	16
Mean No. Corpora Lutea	9.4	10.4	10.3
Mean No. Implantation Sites	8.8	9.0	9.8
Mean % Preimplantation Loss	6.73	13.68	4.73
Mean No. Viable Fetuses	8.6	8.8	9.4
Mean Fetal Sex Ratio (% Males)	46.0	42.2	44.0
Mean % Postimplantation Loss	2.16	1.75	3.54
Mean No. Nonviable Fetuses	0.0	0.0	0.0
Litter Size (Mean No. per Animal)	8.6	8.8	9.4
Mean No. Early + Late Resorptions	0.2	0.2	0.4
Mean No. Early Resorptions	0.1	0.0	0.3
Mean No. Late Resorptions	0.1	0.2	0.1

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Litters			
No. Litters/Fetuses Evaluated	17/147	17/150	16/151
Mean Fetal Body Weight [b] (Males) (g)	43.27	41.81	42.16
Mean Fetal Body Weight [b] (Females) (g)	42.28	42.62	42.70
Mean Fetal Body Weight [b] (Males + Females) (g)	42.70	42.26	42.60
Fetal Observations			
No. Litters/Fetuses Evaluated	17/147	17/150	16/151
External Malformations/Variations	-	-	-
(No. affected litters/No. affected fetuses)	0/0	0/0	0/0
Visceral Malformations/Variations	-	-	-
(No. affected litters/No. affected fetuses)			
Absent gallbladder	1/1	0/0	1/1
Gallbladder small	0/0	1/2	3/3
Kidney increased renal pelvic calvitation	0/0	0/0	1/1
Kidney malpositioned	0/0	0/0	1/1
Kidney malrotated	0/0	0/0	1/1
Ureter malpositioned	3/3	2/2	1/1

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Visceral Malformations/Variations (cont.) (No. affected litters/No. affected fetuses)[c]	-	-	-
Eyes hemorrhagic	0/0	2/2	0/0
Aortic arch dilated	0/0	0/0	1/1
Carotid artery arising from innominate artery	0/0	1/1	0/0
Ductus arteriosus constricted	0/0	0/0	1/1
Interventricular septum discontinuous	0/0	0/0	1/1
Pulmonary trunk small	0/0	0/0	1/1
Lung lobe absent	3/5	2/2	1/1
Thoracic cavity full of fluid	1/1	0/0	0/0
Ventricle large	0/0	0/0	1/1

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Dose Level (mg/kg/day)	0	20	60
Skeletal Malformations/Variations (No. affected litters/No. affected fetuses)[c]			
Cervical vertebrae hemicentric	0/0	1/1	0/0
Cervical vertebrae misaligned	0/0	1/1	0/0
Cervical vertebrae misshapen	0/0	1/1	0/0
Cervical vertebrae neural arches absent	0/0	1/1	0/0
Cervical vertebrae neural arches misaligned	0/0	1/1	0/0
Cervical vertebrae neural arches misshapen	0/0	1/1	0/0
Clavicle misshapen	1/1	0/0	0/0
Ribs branched	1/1	0/0	0/0
Ribs fused	0/0	0/0	2/2
Ribs rudimentary	17/53	14/49	16/48
Hyoid bent	5/8	4/4	1/3
Jugal fused	2/2	2/3	2/3
Parietal bone irregular ossification	1/1	0/0	0/0
Sternabrae fused	1/1	1/1	2/4
Sternabrae misaligned	0/0	1/2	2/2
Sternabrae misshapen	1/1	0/0	0/0
Thoracic centra fused	0/0	0/0	1/1
Thoracic neural arches misshapen	0/0	0/0	2/2

2.6.7.13.5 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/679（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
GD	Gestation Day
NA	Not applicable
No.	Number
TK	Toxicokinetic
-	No noteworthy findings

a. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

b. Least square mean.

c. There were no test item-related fetal gross external, visceral or skeletal examination findings.

2.6.7.13 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験ー報告書の題名

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験ー報告書の題名：A Dose Range Finding Embryo Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Mice

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Mice/Crl:CD1(ICR)	**Duration of Dosing:**	Gestation Days 6-15	**Report Number:**	R&D/13/253
				CTD Location:	4.2.3.5.2-PIB-1
Age at First Dose:	Approximately 70 days	**Day of Mating:**	Gestation Day 0	**Study Number:**	TD12-185 [redacted] 20034548
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Day of C-Section:**	Gestation Day 18		
Special Features:	Maternal and fetal toxicokinetics	**Method of Administration:**	Gavage (2 mL/kg)	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle/Formulation:	Phosal 53MCT: PEG 400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)				

Conclusion: There was no apparent A-1325912-related maternal or embryo-fetal toxicity in mice at doses up to 100 mg/kg, the highest dose tested.

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/253（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Toxicokinetics of A-1325912 (Mean ± SD[a]):				
Maternal $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL) GD 15	ND	7.29	26.8	64.8
Maternal C_{max} (µg/mL) GD 15	ND	0.436	1.53	3.35
Maternal Plasma Concentration on GD 15 (µg /mL)	ND	0.378 ± 0.239	1.13 ± 0.529	2.61 ± 0.837
Fetal Plasma Concentration on GD 15[b] (µg /mL)	ND	0.0265 ± 0.0215	0.111 ± 0.0412	0.228 ± 0.0709
Fetal:Maternal Plasma Concentration Ratio	ND	0.0889 ± 0.0785	0.114 ± 0.0394	0.0903 ± 0.0207

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/253（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Dams:				
No. Evaluated	10	10	10	10
No. Pregnant	9	9	9	8
No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations [e]	-	-	-	-
Necropsy Observations [e]	-	-	-	-
Maternal Body Weight				
Corrected Maternal Body Weight [d]	-	-	-	-
Maternal Body Weight Gain (%)	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Gain [d]	-	-	-	-
No. Litters Evaluated	9	9	9	8
Mean No. Corpora Lutea	15.4 ± 1.5	14.4 ± 3.0	15.9 ± 1.4	15.9 ± 1.6
Mean No. Implantations	15.3 ± 1.6	14.3 ± 2.9	15.6 ± 1.3	15.8 ± 1.6
Gravid Uterine Weight (grams)	25.0 ± 2.8	24.4 ± 3.6	24.8 ± 2.6	26.6 ± 3.3
Mean % Preimplantation Loss	0.7 ± 2.2	0.7 ± 2.1	2.0 ± 3.1	0.8 ± 2.2

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/253（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Litters:				
No. Litters Evaluated	9	9	9	8
No. Live Fetuses Evaluated	128	127	130	124
Mean No. Resorptions	0.9 ± 0.9	0.2 ± 0.4	1.1 ± 0.9	0.1 ± 0.4
No. of Litters with Dead Fetuses	2	0	0	1
Mean % Postimplantation Loss	7.1 ± 6.0	1.4 ± 2.8	7.0 ± 5.9	1.5 ± 2.9
Mean Combined Fetal Body Weight (g)	1.39 ± 0.07	1.38 ± 0.13	1.36 ± 0.10	1.35 ± 0.10
Fetal Sex Ratios (% males)	55.2 ± 8.6	47.8 ± 13.6	52.6 ± 12.6	43.9 ± 7.0

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/253（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
No. Litters Evaluated	9	9	9	8
No. Fetuses Evaluated	130	127	130	125
No. Live Fetuses	128	127	130	124
No. Dead Fetuses	2	0	0	1
Fetal Anomalies (# affected liters/# affected fetuses)[c]:				
Gross External Anomalies	-	-	-	-
Cleft palate	0/0	0/0	1/1	0/0
Fore and/or hind limb short	0/0	0/0	0/0	1/1
Fore and/or hind limb absent	0/0	0/0	0/0	1/1
Fore and/or hind limb digit absent	0/0	0/0	0/0	1/1
Tail bent	0/0	0/0	0/0	1/1
Fetal Anomalies (# affected liters/# affected fetuses)[c]:				
Visceral Anomalies	-	-	-	-
Cleft palate	1/1	0/0	2/2	0/0
Retina folded	1/1	1/1	0/0	1/1
Micropthalmia	0/0	1/1	0/0	0/0
Retina absent	0/0	0/0	0/0	1/1
Brain ventricle(s) dilation	0/0	0/0	1/1	0/0
Umbilical artery descends to left of urinary bladder	3/4	5/10	4/9	4/5

2.6.7.13.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/253（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
ND	None detected; below quantification limit of 0.0367 µg/mL
GD	Gestation day
-	No noteworthy findings

a. Where applicable
b. Pooled fetal blood samples.
c. Only effects considered test item-related are listed in this section.
d. Corrected maternal body weight (GD 18 body weight minus the gravid uterine weight).
e. There were no test item-related fetal gross external, visceral or skeletal examination findings.

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Embryo Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Mice

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Mouse/Crl:CD1(ICR)	**Duration of Dosing:**	GD 6-15	**Report Number:**	R&D/13/950
				CTD Location:	4.2.3.5.2-PIB-2
		Day of Mating:	GD 0	**Study Number:**	TD13-162 [redacted] 20035615
Age at First Dose:	Approximately 77 days of age	**Day of C-Section:**	GD 18	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)		
Special Features:	Maternal/Fetal Toxicokinetics	**Vehicle/Formulation:**	Phosal 53MCT: PEG 400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)		

No-Observed-Adverse-Effect Level of A-1325912:

F_0 Females: 100 mg/kg

F_1 Litters: 100 mg/kg

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Toxicokinetics of A-1325912 (Mean ± SD[a]):				
Mean Maternal AUC (µg•hr/mL)				
GD 15	-	9.63	23.6	73.1
Mean Maternal C_{max} (µg/mL)				
GD 15	-	0.534	1.29	3.48
Mean (± SD) Maternal Plasma Concentration on GD 15 (µg/mL)	-	0.404 ± 0.198	0.967 ± 0.358	3.04 ± 0.777
Mean (± SD) Fetal Plasma Concentration on GD 15[b] (µg/mL)	-	0.0101 ± 0.0219	0.0691 ± 0.0404	0.228 ± 0.0766
Fetal: Maternal Plasma Concentration Ratio	-	0.0239 ± 0.0528	0.0725 ± 0.0347	0.0729 ± 0.0228

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Dams:				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Pregnant	24	22	21	23
No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations [c]	-	-	-	-
Necropsy Observations [c]	-	-	-	-
Body Weight Gain (%)	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-
No. Litters Evaluated	24	22	21	23
Mean No. Corpora Lutea	14.2	14.2	14.0	13.3
Mean No. Implantations	14.0	14.1	13.8	13.1
Gravid Uterine Weight (grams)	21.63	21.85	22.39	21.31
Mean % Preimplantation Loss	0.8	0.8	1.3	2.0

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Litters:				
No. Litters Evaluated	24	22	21	23
No. Fetuses Evaluated	307	289	276	283
Mean No. Resorptions	1.1	1.0	0.7	0.8
No. of Litters with Dead Fetuses	2	0	1	0
Mean % Postimplantation Loss	8.7	7.2	4.9	8.6
Mean Fetal Body Weight (g)	1.29	1.31	1.33	1.37**[d]
Fetal Sex Ratios (% males)	52.6	51.8	53.2	54.6

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Fetal Anomalies[f] (# Affected Liters/# Affected Fetuses):				
Gross External Anomalies				
No. Litters Evaluated	24	22	21	23
No. Fetuses Evaluated	307	289	276	283
Eye lids open	3/3	0/0	1/1	2/2
Cleft palate	0/0	3/3**	0/0	0/0
Hindlimbs rotated	0/0	0/0	0/0	1/1
Fetal Anomalies[f] (# Affected Liters/# Affected Fetuses):				
Visceral Anomalies	-	-	-	-
No. Litters Evaluated	24	22	21	22
No. Fetuses Evaluated	149	139	132	136
Cleft palate	0/0	1/1	0/0	0/0
Eye lids open	2/2	0/0	1/1	1/2
Retina folded	2/2	0/0	1/1	0/0
Lens formed outside retina and cup	1/1	0/0	0/0	0/0
Umbilical artery descends to left of urinary bladder	10/11	5/6	7/12	9/11

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	3	10	100
Fetal Anomalies[f] (# Affected Liters/# Affected Fetuses):				
Skeletal Anomalies	-	-	-	-
No. Litters Evaluated	24	22	21	23
No. Fetuses Evaluated	158	150	144	147
Skull, frontals contain an interfrontal	6/12	5/6	3/5	6/6
Skull, palate incompletely ossified	0/0	2/2	0/0	0/0
Cervical vertebrae, cervical rib present at 7th cervical vertebrae	16/40	15/29	12/33	10/31
Ribs, fused	0/0	1/1	0/0	0/0
Manubrium, fused	1/1	0/0	0/0	0/0
Sternal centra, fused	0/0	1/1	0/0	2/2
Sternal centra, asymmetric				
Fetal Anomalies[r] (# Affected Liters/# Affected Fetuses):	1/1	0/0	0/0	3/3
Ossification Site Averages/Fetus/Litter	-	-	-	-

2.6.7.13.2 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/950（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
GD	Gestation Day
ND	None detected
No.	Number
-	No noteworthy findings
**	$p < 0.01$

a. Where applicable

b. Pooled fetal blood samples.

c. Only effects considered test item-related are listed in this section.

d. This apparent increase in combined fetal body weights was considered unrelated to A-1325912 because the average weight for male fetuses and the average weight for female fetuses were within the historical control ranges observed at the Testing Facility.

e. Only effects considered test article-related are listed in this section.

f. There were no test item-related fetal gross external, visceral or skeletal examination findings.

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験－報告書の題名：An Embryo-Fetal Development Study of A-1325912 Free Form by Oral Gavage in Rabbits

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rabbits/ New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]	**Duration of Dosing:**	GD 7-19	**Report Number:**	R&D/13/638
				CTD Location:	4.2.3.5.2-PIB-4
		Day of Mating:	GD 0	**Study Number:**	TE13-163 [redacted] 20035617
Age at First Dose:	Approximately 6 months of age	**Day of C-Section:**	GD 29		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Gavage	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	Maternal and fetal toxicokinetics	**Vehicle/Formulation:**	Phosal 53MCT: PEG 400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)		

No-Observed-Adverse-Effect Level of A-1325912:

F_0 Females: Not established. NOAEL was not established, since maternal toxicity was observed in all dose groups and was considered vehicle-related.

F_1 Litters: 100 mg/kg

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	10	100
Toxicokinetics of A-1325912 (Mean ± SD):			
Maternal $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg•hr/mL)			
GD 7	ND	0.449 ± 0.0831	1.26 ± 0.249
GD 19		0.404 ± 0.133	2.11 ± 1.60
Maternal C_{max} (µg/mL)			
GD 7	ND	0.0789 ± 0.0198	0.210 ± 0.0338
GD 19		0.0728 ± 0.0350	0.259 ± 0.119
Maternal Plasma Concentration on GD 20[a] (ng/mL)		5.31 ± 1.47	58.4 ± 42.1
Fetal Plasma Concentration on GD 20[a,b] (ng/mL)	ND	0.165 ± 0.330	1.27 ± 1.49
Fetal: Maternal Plasma Concentration Ratio	ND	0.0237 ± 0.0474	0.0251 ± 0.0233

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	10	100
Dams:			
No. Evaluated	20	20	20
No. Pregnant	20	18	20
No. Died or Euthanized Moribund [c]	2	3	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter [d]	2	1	2
No. Delivered and Euthanized [d]	1	0	0
Clinical Observations [e,f]	-	-	-
Ungroomed coat	230/18	214/18	191/16
Soft or liquid feces	87/17	83/16	73/15
Scant feces	87/15	72/13	97/14
Reduced feces	9/6	7/6	11/7
Thin body condition	19/5	10/5	33/6
Fecal stained fur	30/11	10/7	6/4
Necropsy Observations	-	-	-
Body Weight Gain [g]	-0.10 g	+0.00 g	-0.03 g
Food Consumption [g]	68.8 g/day	95.0 g/day	81.7 g/day
No. Litters Evaluated	15	14	17
Mean No. Corpora Lutea	9.5	8.5	8.9
Mean No. Implantations	8.9	7.6	7.9
Mean % Preimplantation Loss	6.2	10.1	11.3

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	**0**	**10**	**100**
Litters:			
No. Litters Evaluated	15	14	17
No. Fetuses Evaluated	124	99	131
Mean No. Resorptions	0.7	0.6	0.2
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	8.2	6.7	2.3
Mean Combined Fetal Body Weight (g)	41.68	46.06	43.88
Fetal Sex Ratios (% males)	47.6	48.3	46.2

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	10	100
Dams:			
No. Pregnant	20	18	20
No. Litters/ Fetuses Evaluated	15/124	14/99	17/131
Fetal Anomalies (# Affected Liters/# Affected Fetuses)[h]:			
Gross External Anomalies [h]	0/0	0/0	0/0
Fetal Anomalies (# Affected Liters/# Affected Fetuses)[h]:			
Visceral Anomalies [h]	0/0	0/0	0/0
Fetal Anomalies (# Affected Liters/# Affected Fetuses)[h]:			
Skeletal Anomalies[h]	-	-	-
Skull, nasals contain an internasal	0/0	1/1	1/1
Skull, frontals contain an interfrontal	1/1	0/0	0/0
Hyoid, angulated	2/2	1/1	1/1
Thoracic vertebrae, hemivertebra	1/1	1/1	1/1
Thoracic vertebrae, centra fused	1/1	0/0	1/1
Thoracic vertebrae, centrum unilateral ossification	1/1	0/0	0/0
Thoracic vertebrae, arches fused	0/0	1/1	0/0
Thoracic vertebrae, arch small	0/0	1/1	0/0
Caudal vertebrae, fused	0/0	1/1	0/0

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	0	10	100
Fetal Anomalies (# Affected Liters/# Affected Fetuses) [h]:			
Skeletal Anomalies (Cont.)			
Ribs, 11 present	0/0	0/0	1/1
Ribs, split	1/1	1/1	0/0
Ribs, fused	1/1	1/1	0/0
Manubrium, irregularly shaped	0/0	1/1	0/0
Manubrium, two segments	1/1	0/0	0/0
Sternal centra, fused	2/2	1/3	1/2
Xiphoid, irregularly shaped	0/0	1/1	0/0
Forelimb, phalanx small	1/1	0/0	0/0
Forelimb, phalanx absent	1/1	0/0	0/0
Forelimb, digit absent	1/1	0/0	0/0
Ossification Site Averages/Fetus/Litter	-	-	-

2.6.7.13.3 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/13/638（続き）

Test Article: A-1325912 (ABT-530); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
ND	None Detected
No.	Number
-	No noteworthy findings
GD	Gestation Day

a. Samples collected on GD 20, two hours after dose administration.

b. Pooled fetal blood samples.

c. Mortality (found dead or unscheduled euthanasia) or abortions occurred in all study groups over GD 20 to GD 29 (five, four, and three rabbits in the 0, 10, and 100 mg/kg dose groups, respectively). It is likely that the vehicle formulation contributed to the declining clinical condition of the rabbits across the dose groups. All early deaths occurred between GD 20 and GD 27 after the completion of dose administration (13 total doses of the control article or A-1325912 had been administered). Death was preceded by adverse clinical signs, maternal body weight loss (-0.25 to -0.80 kg), and severely reduced food consumption (< 50% consumed) for up to 16 days.

d. A total of five abortions were noted between GD 25 and GD 28. In addition, in the control group, there was one early delivery on GD 29 (tissues in the cage pan), following signs of an abortion (red substance in the cage pan from GD 21 to 24 and GD 26 to GD 29). Abortions/delivery were preceded by adverse clinical signs, maternal body weight loss (-0.41 to -1.04 kg), and severely reduced food consumption (< 50% consumed) for up to 21 days.

e. Since these findings occurred in all dose groups, including controls and there was no dose-response relationship to A-1325912, they were considered vehicle-related rather than A-1325912-related.

f. Total number of observations/number of rabbits with observation

g. During the dosing period (calculated as GD 7-20 for body weight data). For controls and test article-treated groups, the actual values are shown. Since these findings occurred in all dose groups, including controls and there was no dose-response relationship to A-1325912, they were considered to be vehicle-related rather than A-1325912-related.

h. There were no test item-related fetal gross external, visceral or skeletal examination findings

2.6.7.14 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－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

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－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－報告書の題名：A Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Study of A-1282576 by Oral (Gavage) in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:**	Twice daily on Gestation Day (GD) 6 through Lactation Day 20 (LD, rats that delivered a litter) or GD 24 (rat that did not deliver a litter)	**Report Number:**	R&D/16/0239
				CTD Location:	4.2.3.5.3-GLE-1
Initial Age:	75 to 81 days of age on arrival; 76 to 82 days of age at first dose	**Day of Mating:**	GD 0	**Study Number:**	TA15-093 [redacted] 20075287
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	PEG 400:Tween 20:Poloxamer 124 (70:20:10, % w/w); 2 mL/kg	**Method of Administration:**	Gavage
Special Features:	Toxicokinetics			**GLP Compliance:**	Yes

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

F_1 Males: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

F_1 Females: 120 mg/kg/day (60 mg/kg BID)

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/16/0239（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**10**	**40**	**120**
F_0 Females: Toxicokinetics: LD 14:AUC (µg*hr/mL)	NA	22.0	208	492
No. Pregnant	22	22	21	22
No. Died or Sacrificed Moribund [a]	0	1	0	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g % [b])	383.5	+2.8	+3.0	+2.7
Lactation Body Weight (g % [b])	330.1	+1.6	+2.6	+2.8
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Lactation Food Consumption (g % [b])	58.0	-0.5	+2.2	+1.2
Mean Duration of Gestation (days)	22.4	22.4	22.4	22.5
Abnormal Parturition	-	-	-	-

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/16/0239（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	10	40	120
F_1 Litters	No. Litters Evaluated	22	22	21	22
(Preweaning):	Mean No. of Implantations	13.2	13.5	13.6	13.5
	Mean No. Pups/Litter	12.3	12.9	12.7	12.7
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	12.3	12.9	12.6	12.7
	Mean No. Stillborn Pups/Litter	0.0	0.0	0.0	0.0
	Postnatal Survival to Day 4	99.2	98.2	98.1	98.2
	Postnatal Survival to Weaning	98.5	99.6	98.5	99.6
	No. of Total Litters Losses	0	0	0	0
	Change in Pup Body Weights (g[c])	32.3	31.8	33.7	33.4
	Pup Sex Ratios at Birth (% males)	47.4	54.6	51.8	53.2
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/16/0239（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	10	40	120
F_1 Males:	No. Evaluated Postweaning	22	22	22	22
(Postweaning)	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight Change (g %[d])	468.4	-3.8	-2.1	-1.3
	Food Consumption (g %[d])	56.6	-8.1**	-3.9	-5.6
	Age of Preputial Separation (Days)	45.0	44.9	43.8	44.9
	Acoustic Startle	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Water Maze	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.5	3.0	2.2
	No. of Males that Mated	22	22	21	22
	No. of Fertile Males	21	21	20	22

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/16/0239（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	10	40	120
F_1 Females:	Toxicokinetics: AUC (µg*hr/mL)				
(Postweaning)	No. Evaluated Postweaning	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Change (g %ᶜ)	278.7	+0.8	+2.3	+1.6
	Gestation Body Weight Change (g %ᶜ)	361.8	-2.6	-0.9	-0.8
	Premating Food Consumption (g %ᶜ)	37.6	+2.1	+0.5	+2.1
	Gestation Food Consumption (g %ᶜ)	25.4	+2.0	-1.2	+2.8
	Mean Age of Vaginal Patency (days)	31.8	31.5	32.0	31.7
	Acoustic Startle	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Water Maze	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.5	3.0	2.2
	No. of Females Sperm-Positive	22	22	21	22
	No. of Pregnant Females	21	21	20	22
	Mean No. Corpora Lutea	18.1	18.3	17.8	18.1
	Mean No. Implantations	16.3	16.8	17.0	17.3
	Mean % Preimplantation Loss	9.8	8.2	4.8	4.3

2.6.7.14.1 グレカプレビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/16/0239（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Vehicle)**	**10**	**40**	**120**
F_2 Litters:	Mean No. Viable Embryos/Litter	15.5	16.0	15.9	16.7
	Mean No. Nonviable Embryos/Litter	0.8	0.8	1.0	0.6
	Mean % Postimplantation Loss	4.8	4.4	6.2	3.3

- No noteworthy findings. GD = Gestation day LD = Lactation day

* - $p \leq 0.05$ ** - $p \leq 0.01$

a. One female (No. 3334) in the 10 mg/kg/day dose group was euthanized due to adverse clinical signs, and one female (No. 3384) in the 120 mg/kg/day dose group was found dead. These deaths were probably secondary to an intubation error.

b. At end of gestation or lactation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

c. From birth to weaning.

d. From weaning to mating. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

e. At the end of premating or gestation period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.14 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－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

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－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－報告書の題名：A Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Study of A-1325912 Free Form by Oral (Gavage) in Mice, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Species/Strain: Mouse/ Crl:CD1(ICR)
Duration of Dosing: GD 6 through LD 20
Report Number: R&D/15/0822
CTD Location: 4.2.3.5.3-PIB-1
Initial Age: Approximately 60 days of age at receipt
Day of Mating: GD 0
Study Number: TD15-099
[redacted] 20075788
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Phosal 53MCT: PEG 400: Poloxamer 124: Cremophor RH40 (40:20:20:20 w/w)
Method of Administration: Gavage
Special Features: Toxicokinetics
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 100 mg/kg/day (highest dose tested)

F_1 Males: 100 mg/kg/day

F_1 Females: 100 mg/kg/day

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	3	10	100
	F0 Toxicokinetics: Dam C_{max} on LD 14 (µg/mL)	NA	1.19	2.99	7.58
	F0 Dam AUC on LD 14 (µg•hr/mL)	NA	14.5	32.4	107
	F1 Pup plasma concentration on LD14 (µg/mL)	NA	0.0837	0.210	1.22
F0 Females:	No. Pregnant	22	21	23	21
	No. Died or Sacrificed Moribund [a]	2	1	2	0
	No. Aborted or with Total Res. Of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Gestation Body Weight (g, %) [b,c] - GD 18	58.3	+1.9	+1.7	+0.9
	Lactation Body Weight (g, %) [b,c] - LD 21	42.1	-2.4	-1.7	-1.0
	Gestation Food Consumption (g, %) [b,c] - GD 6-18	8.1	+2.5	-2.5	-6.2
	Lactation Food Consumption (g, %) [b,c] - LD 1-14	19.4	+2.1	+3.6	-2.6
	Mean Duration of Gestation (days)	19.7	19.7	20.0	19.8
	Abnormal Parturition	-	-	-	-

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	3	10	100
F1 Litters:	No. Litters Evaluated	22	21	22	21
(Preweaning)	Mean No. of Implantations	14.4	14.2	14.0	13.2
	Mean No. Pups/Litter	13.4	13.8	13.4	13.5
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	13.2	13.7	13.2	13.4
	Mean No. of Stillborn Pups/Litter	0.1	0.1	0.1	0.0
	Postnatal Survival to Day 4	97.6	95.8	92.4**	94.0
	Postnatal Survival to Weaning	98.8	94.2**	96.8	95.6*
	No. of Total Litters Losses	0	0	2	0
	Pup Body Weights (g, %) [c,d] - PND 21	9.2	-6.5	0.0	+8.7
	Pup Sex Ratios (% males) - PND 21	49.8	45.8	48.3	50.5
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; all statistically significant findings were considered unrelated to A-1325912 because they were not dose dependent, the numbers of surviving pups/litter was similar across all dose groups throughout the lactation period and/or values were within the historical control range of the testing facility.

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	3	10	100
F1 Males:	No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25
(Postweaning)	No. Died or Sacrificed Moribund [e]	0	0	2	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations				
	Macroscopic Necropsy	-	-	-	-
	Organ Weights	-	-	-	-
	Body Weight (g, %) [e,f] - PND 85	36.8	+1.6	+2.2	-0.8
	Food Consumption (%) [e,f] - PND 29-85	5.9	+1.7	+5.1	+6.8
	Mean Age of Preputial Separation (days)	29.6	30.2	30.9*	31.2**
	Auditory Startle Habituation	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.0	1.6	2.0
	No. of Males that Mated	25	24	23	25
	No. of Fertile Males	23	21	21	25

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; all statistically significant findings were considered unrelated to A-1325912 because they were minimal in magnitude and within the historical control range of the testing facility

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	3	10	100
F1 Females:	No. Evaluated	25	25	25	25
(Postweaning)	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations:	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight (g, %) [c,g] - PND 85	29.3	+1.4	-2.7	-0.3
	Gestation Body Weight (g, %) [c,g] - GD 13	45.8	-0.2	-4.6	-1.3
	Premating Food Consumption (g, %) [c,g] PND 29-85	5.7	+3.5	+3.5	+3.5
	Gestation Food Consumption (g, %) [c,g] - GD 0-13	6.7	+4.5	+11.9	+4.5
	Mean Age of Vaginal Patency (days)	27.8	29.1	28.4	28.4
	Auditory Startle Habituation	-	-	-	-
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.0	1.7	2.0
	No. of Females Sperm Positive	25	24	25	25
	No. of Pregnant Females	23	22	23	25
	Mean No. Corpora Lutea	15.5	14.4	14.8	16.0
	Mean No. Implantations	15.1	14.1	14.2	15.2
	Mean % Preimplantation Loss	2.5	3.3	3.8	4.5

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験ー報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	3	10	100
F2 Litters:	Mean No. Viable Embryos/Litter	14.6	12.9	13.6	13.5
	Mean No. Nonviable Embryos/Litter	0.5	1.2	0.6	1.7
	Mean % Postimplantation Loss	3.5	8.0	4.0	11.4

2.6.7.14.1 ピブレンタスビルの生殖発生毒性試験－報告書番号：R&D/15/0822（続き）

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
GD	Gestation day
LD	Lactation day
NA	Not applicable
No.	Number
PND	Postnatal Day
-	No noteworthy findings
+	Mild
++	Moderate
+++	Marked

a. Five females were found dead or euthanized during the study. Three females were found dead (Female Number 5501 and 5504 in the control group and Female Number 5559 in the 10 mg/kg/day group); one female in the 3 mg/kg/day group (Female Number 5532) and one female in the 10 mg/kg/day group (Female Number 5555) were euthanized due to adverse clinical signs. These five mortalities were considered unrelated to A-1325912 because: 1) the deaths were a result of a dosing error; 2) the deaths were not dose dependent; and/or 3) the deaths occurred in the control group.

b. At end of gestation or lactation.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d. At weaning.

e. Male 6462 (10 mg/kg/day) was found dead on PND 59. This death was considered unrelated to A-1325912 because it was not dose dependent. Male 6475 (10 mg/kg/day) was euthanized on PND 34 due to adverse clinical observations. This death was considered to be due to a failure to thrive (the animal was 5.9 g at weaning compared to a range of 7.6 g to 15.8 g in all other F1 generation mice) and unrelated to A-1325912.

f. At the end of the premating period.

g. At the end of premating or gestation period.

2.6.7.15 グレカプレビルの新生児を用いた試験－No Studies Conducted

2.6.7.15 ピブレンタスビルの新生児を用いた試験－No Studies Conducted

2.6.7.16 グレカプレビルの局所刺激性試験－No Studies Conducted

2.6.7.16 ピブレンタスビルの局所刺激性試験－No Studies Conducted

2.6.7.17 グレカプレビルのその他の毒性試験

2.6.7.17.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Impurities－Ames Assays

Impurity[a]	Highest Concentration Tested	Result[b]	Report Number (CTD Location), Conducting Laboratory[c, d]
V*	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
W* (A-1587901.0)	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
Y*	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
X*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0776 (4.2.3.7.6-GLE-3), AbbVie
Z*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0158 (4.2.3.7.6-GLE-2), AbbVie
AA*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0881 (4.2.3.7.6-GLE-4), AbbVie
AB*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0245 (4.2.3.7.6-GLE-5), AbbVie
AC*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0477 (4.2.3.7.6-GLE-6), AbbVie
AE*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0477 (4.2.3.7.6-GLE-6), AbbVie
AF*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0552 (4.2.3.7.6-GLE-7), AbbVie
AG*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
AH*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
AI*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AJ*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AK*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AL*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0634 (4.2.3.7.6-GLE-9), AbbVie
AM*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0682 (4.2.3.7.6-GLE-10), AbbVie

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Impurities－Ames Assays（続き）

Impurity	Highest Concentration Tested	Result	Report Number (CTD Location), Conducting Laboratory
AN*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0682 (4.2.3.7.6-GLE-10), AbbVie
AO*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0721 (4.2.3.7.6-GLE-11), AbbVie
AP*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0822 (4.2.3.7.6-GLE-12), AbbVie
AQ*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0872 (4.2.3.7.6-GLE-13), AbbVie
AR*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0872 (4.2.3.7.6-GLE-13), AbbVie
F*		Negative[c]	Literature Reference
AS*	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/1006 (4.2.3.7.6-GLE-14), AbbVie
A*	1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/16/0561 (4.2.3.7.6-GLE-8), AbbVie
B*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/14/0416 (4.2.3.7.6-GLE-1), AbbVie
C*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/11/748 (4.2.3.7.6-GLE-15), AbbVie
D*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/14/0416 (4.2.3.7.6-GLE-1), AbbVie
E*	1000 µg/plate, +/- S9	Positive	R&D/12/942 (4.2.3.7.6-GLE-16), AbbVie

a. Although the toxicology report title and/or report for some of the impurities notes that the study was conducted for a compound other than either glecaprvir, the impurity evaluated is also a potential impurity in glecaprevir drug substance or the manufacturing process of glecaprevir drug substance

b. R&D11/748 evaluated the effect of the process impurity on bacterial strains of TA98 and TA100; R&D/12/942 evaluated the effect of the process impurity on bacterial strains of TA98, TA100 and WP2uvrAPM101 (Escherichia coli). The remainder of the studies evaluated the effect of the process impurities on bacterial strains of TA1535, TA1537, TA98, TA100 (Salmonella) and WP2uvrAPKM101 (Escherichia coli).

c. The Petri plate assay used the pre-incubation method, where the 6-well plate assays used the plate incorporation procedure. R&D/11/748 used the plate incorporation assay method. R&D/12/942 used both the plate incorporation and Petri assay. The remainder of the studies utilized the 6-well plate incorporation method.

d. All studies with the exception of R&D/14/0416, R&D/11/748 and R&D/12/942 were conducted by Good Laboratory Procedures (GLP).

e. Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck W, Tainer B, Zeiger E. Salmonella mutagenicity tests: II Results from the testing of 270 chemicals. Environ Mutagen. 1986;8 (Suppl. 7):1-199.

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other

2.6.7.17.2.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of A-1282576 Free Form in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Test for Induction of: Phototoxicity in vitro
No. of Independent Assays: 1
Report Number: R&D/13/488
CTD Location: 4.2.3.7.7-GLE-1
Strains: Balb/c 3T3 fibroblasts
No. of Replicate Cultures: N/A
Study Number TX13-127 [redacted] 20041893
Metabolizing System: none
No. of Cells Analyzed/Culture: N/A
Vehicles: **For Test Article:** DPBS-1% DMSO **For Positive Controls:** DPBS-1% DMSO
GLP Compliance: Yes
Treatment: 1.5 hours then additional 30 minutes irradiated
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Phototoxic Effects: Positive phototoxic effect

Assay	Test Article	Concentration Range (µg/mL)	IC_{50} -UVR (µg/mL)	IC_{50} +UVR (µg/mL)	Photoirritancy Factor	Mean Photo Effect
Assay 1	A-1282576	0.032 - 100	--	9.747	>10.263*	0.240*
Positive Control	Promethazine	0.032 - 100	45.21	2.074	21.814*	0.364*

Abbreviations: DPBS-DMSO = Dulbecco's phosphate-buffered saline with calcium and magnesium/dimethyl sulfoxide

-UVR: Without ultraviolet irradiation; +UVR: With 5 J/cm^2 UVA and 21 mJ/cm^2 UVB; * = indicates phototoxic potential considering IC_{50}-UVR to be 100 µg/mL, the highest concentration used

2.6.7.17.2.1 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/13/488（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576)

Criteria

Mean Photo Effect (MPE)	Photoirritancy Factor (PIF)	Phototoxic Potential
<0.1	<2	Non-phototoxic
>0.1 and <0.15	>2 and <5	Probably phototoxic
>0.15	>5	Phototoxic

2.6.7.17.2.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：A Repeat Dose Phototoxicity Study to Determine the Effects of Oral (Gavage) Administration of A-1282576 Free Form on Eyes and Skin in Pigmented Rats

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Test For: Phototoxicity in vivo

Duration of Dosing: Three days

Report Number: R&D/13/803

CTD Location: 4.2.3.7.7-GLE-2

Species/Strain: Rat/Crl:LE (Long-Evans), female

Tissues evaluated: Skin, eyes

Study Number TA13-192 [redacted] 20045103

UVR Dose: 10.3 J/cm^2 UVA, 0.145 J/cm^2 UVB

Exposure after final administration: 60 ± 10 min.

Duration of UVR Exposure: Approx. 43 minutes

GLP Compliance: Yes

Age/Wt. Range: Approx. 10 weeks, 198-257 g

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral Gavage

Special Features: BID dosing 12 hours ± 15 minutes apart

Vehicle/Formulation: Polyethylene Glycol 400 (PEG 400):Tween® 20: Poloxamer 124 (70:20:10, w/w); 3 mL/kg/dose

Evidence of Exposure: Plasma gelcaprevir levels

Phototoxicity Effect: No evidence of cutaneous or ocular phototoxicity

2.6.7.17.2.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/13/803（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	40	600	600	50 (8-MOP) [a]
Rats/Group	5	5	5	5	5	3
UVR Exposure	Yes	Yes	Yes	Yes	No (Sham) [b]	Yes
Findings						
Skin Reactions, Lightly-Pigmented Skin Site [c]						
Erythema Grade 1	-	-	-	-	-	6/3
Edema Grade 1	-	-	-	-	-	6/3
Flaking Grade 1	-	-	-	-	-	6/3
Skin Reactions, Darkly-Pigmented Skin Site [c]						
Erythema Grade 1	-	-	-	-	-	6/3
Edema Grade 1	-	-	-	-	-	6/3
Flaking Grade 1	-	-	-	-	-	4/2
Clinical Observations [c]						
Periorbital Edema	-	-	-	-	-	6/3 [c]

2.6.7.17.2.2 グレカプレビルのその他の毒性試験ーOtherー報告書番号：R&D/13/803（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	40	600	600	50 (8-MOP) [a]
Rats/Group	5	5	5	5	5	3
UVR Exposure	Yes	Yes	Yes	Yes	No (Sham) [b]	Yes
Findings						
Ophthalmological Observations [d]						
Diffuse Corneal Edema	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/6 [c]
Ocular Histopathological Observations [f]						
Lens						
Epithelial hyperplasia [g]	-	-	-	-	-	2/2
Fiber swelling and necrosis at the nuclear bow [g]	-	-	-	-	-	1/1
Focal mitotic activity	-	-	-	-	-	1/1
Cornea	-	-	-	-	-	
Neutrophilic infiltration	-	-	-	-	-	3/6
Epithelial necrosis	-	-	-	-	-	1/1
Stromal edema [g]	-	-	-	-	-	3/6
Intercellular epithelial edema [g]	-	-	-	-	-	3/6
Intercellular epithelial vacuolation [g]	-	-	-	-	-	4/4
Loss of endothelium [g]	-	-	-	-	-	3/6
Ulceration [g]	-	-	-	-	-	3/4
Epithelial single cell necrosis [g]	-	-	-	-	-	1/1
Aqueous chamber keratic precipitates [g]						2/2

2.6.7.17.2.2 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/13/803（続き）

Test Article: ABT-493 (A-1282576); Lot Number: [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
-	No noteworthy findings

a. Comparator article 8-methoyxpsoralen. Single administration on the day of UVR exposure.

b. Sham exposure; rats sedated and immobilized but not exposed to UVR.

c. Total number of observations/number of rats with that observation.
Erythema grade 1: barely perceptible light redness
Edema grade 1: mild, raised < 1 mm
Flaking grade 1: barely perceptible scales

d. By direct observation.

e. Internal ocular structures not visible.

f. Number of affected rats/ eyes with the observation.

g. The ocular histopathological findings determined to be indicative of phototoxicity are restricted to the group administered 8-MOP.

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Four Week Oral Gavage Toxicity Study of A-1282576 and A-1325912 (Free Form) in Sprague Dawley Rats

Test Articles: A-1282576 and A-1325912; Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Species/Strain:	Rat, Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:**	28 consecutive days	**Report Number:**	R&D/16/0097
				CTD Location:	4.2.3.7.7-GLE-4
Initial Age:	Nine weeks	**Duration of Postdose:**	None	**Study Number:**	TA16-040
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral Gavage	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% HPMC/10 mL/kg

Special Features: The test item was prepared by milling fixed dose combination tablets and ABT-530 tablets and suspending the milled test items in vehicle

No-Observed-Adverse-Effect Level: NA- this study was not intended to define a NOAEL; no adverse effects were noted.

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/16/0097（続き）

Test Articles: A-1282576 and A-1325912; Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Sex	Males		Females	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**12.5/20**	**0**	**12.5/20**
Number of Animals (Main Study)	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetics[a]: Day 24				
Day 24: C_{max} (glecaprevir/pibrentasvir µg/mL)	-	4.06/0.437	-	6.68/0.220
Day 24: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (glecaprevir/pibrentasvir µg•hr/mL)	-	9.97/2.97	-	10.0/1.19
Dosing Phase				
Number of Animals (Main Study)				
Died or Unscheduled Euthanasia[b]	-	-	-	1
Body Weight (%[c])	442.1	-	241.7	-
Food Consumption (%[c])	27.4	-	17.8	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/16/0097（続き）

Test Articles: A-1282576 and A-1325912; Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Sex	Males		Females	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	12.5/20 Mid	0 (Vehicle)	12.5/20 Mid
Number of Main Study Animals	**10**	**10**	**10**	**9**
Hematology	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/16/0097（続き）

Test Articles: A-1282576 and A-1325912; Lot Numbers: [redacted], [redacted]

Sex	Males		Females	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	12.5/20 Mid	0 (Vehicle)	12.5/20 Mid
Number of Main Study Animals	**10**	**10**	**10**	**10**
Organ Weights[d] (%)	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-

2.6.7.17.2.3 グレカプレビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D/16/0097（続き）

Test Articles: A-1282576 and A-1325912; Lot Numbers: [redacted], [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BLOQ	Below Limit of Quantitation
NA	Not applicable
NE	Not examined
-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$
***	$p < 0.001$
+	Mild
++	Moderate
+++	Marked

a. No difference between Day 1 and end of dosing exposure data (Mean $AUC_{(0\text{-}24h)}$ and C_{max}). Therefore, only end of dosing data are presented. Cohorts of three to four rats/sex/group/time point/collection interval were used.

b. One female was euthanized on Day 7 due to clinical signs related to a dosing error.

c. Group mean at the end of dosing period (Day 28) is presented for control animals.

d. Organ weight data were available for all the main study animals with the exception of one unscheduled death: Animal 2008 (euthanized due to gavage error).

2.6.7.17 ピブレンタスビルのその他の毒性試験

2.6.7.17.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities

2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書の題名：Four-Week Oral Dose Toxicity Study of A-1325912 Free Form (with Impurity) in CD-1 Mice

Test Article: A-1325912; Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Species/Strain:	Mice/CD-1	**Duration of Dosing:**	28 to 29 consecutive days	**Report Number:**	R&D/16/0640
				CTD Location:	4.2.3.7.6-PIB-1
Initial Age:	Nine weeks old	**Duration of Postdose:**	NA	**Study Number:**	TD16-109
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage	**GLP Compliance:**	Yes

Vehicle/Formulation: Phosal 53 MCT: PEG 400: Poloxamer 124: Kolliphor RH40 (40:20:20:20, by weight)/2.0 mL/kg

Special Features: Impurity Qualification; Groups received either vehicle alone or 100 mg/kg/day A-1325912 with or without 0.17% w/w Q* , an amine impurity.

No-Observed-Adverse-Effect Level: N/A

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/16/0640（続き）

Test Article: A-1325912; Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Sex	Males			Females		
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	100 A-1325912 Comparator [a]	100 A-1325912 Impurity [b]	0 (Vehicle)	100 A-1325912 Comparator [a]	100 A-1325912 Impurity [b]
Number of Animals (Plasma Test Item Concentration - Satellite)	4	5	5	4	5	5
Toxicokinetics: Day 28, 6 hours post-dose						
Plasma Concentration (µg/mL) ± SEM [c]	BQL	6.03 ± 0.574	6.36 ± 0.969	BQL	8.23 ± 0.937	6.59 ± 0.228
Dosing Phase						
Number of Animals (Main Study)	10	10	10	10	10	10
Died or Unscheduled Euthanasia	0	0	0	0	0	0
Body Weight [d]	36.11	-	-	31.00	-	-
Food Consumption [e]	5.04	-	-	5.75	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/16/0640（続き）

Test Article: A-1325912; Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Sex	Males			Females		
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	100 Comparator [a]	100 Impurity [b]	0 (Vehicle)	100 Comparator [a]	100 Impurity [b]
Number of Main Study Animals	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Hematology	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/16/0640（続き）

Test Article: A-1325912; Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

Sex	Males			Females		
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	100 Comparator [a]	100 Impurity [b]	0 (Vehicle)	100 Comparator [a]	100 Impurity [b]
Number of Main Study Animals	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Observations	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17.1.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/16/0640（続き）

Test Article: A-1325912; Lot Numbers: [redacted]; [redacted]

GLOSSARY and ENDNOTES

Abbreviation	Definition
BQL	Below the lower quantitation limit
NA	Not applicable
NE	Not examined
-	No noteworthy findings
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$
***	$p < 0.001$
+	Mild
++	Moderate
+++	Marked

a. A-1325912.0 (Lot [redacted], comparator lot); Expressed as free active moiety. Assigned chemical potency: 988 µg A-1325912.0/mg. Q* is identified as a degradant impurity during the manufacture of A-1325912 drug product at levels at or above those projected to be present in the future lots of material intended for clinical use or marketing. The analytical method had selectivity for the impurity such that if it was observed, it would have been reported. Although not listed on the certificate of analysis for Lot [redacted], the impurity was not present above detectable limits given by the method and was considered "undetectable."

b. A-1325912.0 (Lot [redacted] spiked with 0.17% Q* ; Expressed as free active moiety. Assigned chemical potency: 978 µg A-1325912.0/mg "as is."

c. Six hours post dose.

d. At the end of the dosing period. For controls, group means are shown in grams.

e. At the end of the dosing period. For controls, group means are shown in grams/day.

2.6.7.17.1.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay with U* Free Form

Test Article: U* ; Lot Number: [redacted]

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:**	1	**Report Number:**	R&D/14/0229
				CTD Location:	4.2.3.7.6-PIB-2
Species/Strain:	S. typhimurium, E. coli	**No. of Replicate Plates:**	3	**Study Number**	TX13-331 [redacted] AD89HL.502ICH.BTL
Metabolizing System:	Aroclor™ 1254-induced rat liver S9			**GLP Compliance:**	Yes
Vehicles:	**For Test Article:** Anhydrous acetone	**For Positive Controls:**		DMSO, except water for sodium azide	
Treatment:	Plate incorporation for mutagenicity assay			**Date of Treatment:**	[redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.1.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/14/0229（続き）

Test Article: U* ; Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
Without Activation	Anhydrous acetone	100 µL/plate	15 ± 4	95 ± 9	12 ± 4	8 ± 3	25 ± 2
	U*	1.5	13 ± 2[b]	93 ± 14	11 ± 3	7 ± 4	24 ± 2
		5.0	17 ± 9	83 ± 8	9 ± 4	9 ± 4	32 ± 6
		15	21 ± 5	83 ± 16	10 ± 3	6 ± 3	28 ± 4
		50	19 ± 5	94 ± 17	12 ± 4	7 ± 4	25 ± 2
		150	13 ± 3	94 ± 5	12 ± 5	7 ± 2	25 ± 6
		500[a]	19 ± 3	101 ± 4	11 ± 3	8 ± 3	25 ± 3
		1500[a]	15 ± 3	94 ± 9	7 ± 5	3 ± 2	21 ± 4
		5000[a]	8 ± 3	80 ± 2	10 ± 2	5 ± 2	19 ± 3
	2NF	1.0	127 ± 7				
	SA	1.0		641 ± 33	582 ± 32		
	9AAD	75				286 ± 147	
	MMS	1000					350 ± 13

a. Precipitate was observed.

b. One replicate plate was lost due to contamination. Therefore, standard deviation was calculated where n = 2.

2NF: 2-nitrofluorene

SA: sodium azide

9AAD: 9-Aminoacridine

MMS: methyl methanesulfonate

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.1.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities－報告書番号：R&D/14/0229（続き）

Test Article: U* ; Lot Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
With Activation	Anhydrous acetone	100 µL/plate	36 ± 7	102 ± 9	9 ± 2	9 ± 3	28 ± 7
	U*	1.5	31 ± 6	83 ± 10	10 ± 3	8 ± 4	35 ± 7
		5.0	24 ± 7	110 ± 16	10 ± 4	10 ± 2	31 ± 5
		15	22 ± 4	86 ± 7	8 ± 1	9 ± 2	25 ± 6
		50	29 ± 1	94 ± 5	11 ± 4	8 ± 2	28 ± 3
		150	28 ± 7	74 ± 4	11 ± 4	7 ± 2	33 ± 4
		500[a]	25 ± 8	81 ± 7	9 ± 2	8 ± 1	32 ± 3
		1500[a]	26 ± 1	96 ± 16	11 ± 5	8 ± 1	27 ± 6
		5000[a]	21 ± 5	87 ± 8	8 ± 3	6 ± 1	19 ± 5
	2AA	1.0	239 ± 81		83 ± 15		
	2AA	2.0		390 ± 61		47 ± 8	
	2AA	15					204 ± 69

a. Precipitate was observed.

2AA: 2-aminoanthracene

2.6.7.17.1.3 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities Bacterial Mutation Assays for Potential and Actual Manufacturing Impurities

Impurity	Test[c] (GLP Status)	Bacterial Strains	Highest Concentration Tested	Result	Report Number (CTD Location), Conducting Laboratory
G*	Mini Ames (non-GLP)	TA98, TA100	180 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/11/492 (4.2.3.7.6-PIB-3), Abbott
H*	Mini Ames (non-GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/14/0045 (4.2.3.7.6-PIB-4), AbbVie
AT*	Petri plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	5000 µg/plate, +/- S9	Negative	R&D/14/0675 (4.2.3.7.6-GLE-17), [redacted]
AU*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/14/1294 (4.2.3.7.6-PIB-5), AbbVie
AV*, J*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	28 µg/well, +/- S9, 1000 µg/well, +/- S9	Positive	R&D/14/1294 (4.2.3.7.6-PIB-5), AbbVie
AW*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0081 (4.2.3.7.6-PIB-6), AbbVie
AX*	6-well bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0423 (4.2.3.7.6-PIB-7), AbbVie
AY*, AZ*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0497 (4.2.3.7.6-PIB-8), AbbVie
BA*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0602 (4.2.3.7.6-PIB-9), AbbVie
BP*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/0879 (4.2.3.7.6-PIB-10), AbbVie
BB*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/15/1234 (4.2.3.7.6-PIB-11), AbbVie
BC*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0165 (4.2.3.7.6-PIB-16), AbbVie

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.1.3 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Impurities Bacterial Mutation Assays for Potential and Actual Manufacturing Impurities（続き）

Impurity	Test[e] (GLP Status)	Bacterial Strains	Highest Concentration Tested	Result	Report Number (CTD Location), Conducting Laboratory
BD*[f]	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0344 (4.2.3.7.6-PIB-12), AbbVie
BE*[f]	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0366 (4.2.3.7.6-PIB-13), AbbVie
BG*, BH*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/0736 (4.2.3.7.6-PIB-14), AbbVie
BI*, BJ*	6-well plate bacterial mutation test (GLP)	TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2uvrApKM101	1000 µg/well, +/- S9	Negative	R&D/16/1095 (4.2.3.7.6-PIB-15), AbbVie

e. The Petri plate assay used the pre-incubation method, where the 6-well plate assays (both GLP and non-GLP) used the plate incorporation procedure.

f. Although the toxicology report title and/or report for these impurities notes that the study was conducted for a compound other than pibrentasvir, the impurity evaluated is also a potential impurity in pibrentasvir drug substance or the manufacturing process of pibrentasvir drug substance.

2.6.7.17.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other

2.6.7.17.2.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other－報告書の題名：Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of A-1325912 Free Form in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Test for Induction of: Phototoxicity in vitro
No. of Independent Assays: 1
Report Number: R&D/13/656
CTD Location: 4.2.3.7.7-PIB-1
Strains: Balb/c 3T3 fibroblasts
No. of Replicate Cultures: N/A
Study Number TX13-166 [redacted] 20043514
Metabolizing System: none
No. of Cells Analyzed/Culture: N/A
Vehicles: **For Test Article:** DPBS-1% DMSO **For Positive Controls:** DPBS-1% DMSO
GLP Compliance: Yes
Treatment: Approximately 2 hours, including irradiation time
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Phototoxic Effects: None

Assay	Test Article	Concentration Range (mg/L)	IC_{50} (-UVR) (mg/L)	IC_{50} (+UVR) (mg/L)	Photoirritancy Factor	Mean Photo Effect
Assay 1	ABT-530	0.00095 - 3	-	-	*1	0.00
Positive Control	Promethazine	0.032 - 100	56.15	1.30	43.38	0.430

Abbreviations: DPBS-1% DMSO = Dulbecco's phosphate-buffered saline with calcium and magnesium/1% dimethyl sulfoxide

*1: Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated, this indicated a lack of phototoxic potential.

2.6.7.17.2.1 ピブレンタスビルのその他の毒性試験－Other－報告書番号：R&D13/656

Test Article: ABT-530 (A-1325912); Lot Number: [redacted]

Criteria

Mean Photo Effect (MPE)	Photoirritancy Factor (PIF)	Phototoxic Potential
< 0.1	< 2	Non-phototoxic
> 0.1 and < 0.15	> 2 and < 5	Probably phototoxic
> 0.15	> 5	Phototoxic

2.6.7.17.2.2 ピブレンタスビルのその他の毒性試験ーOtherー報告書の題名：10 Day Vehicle Tolerability Study of PEG-300:D5W:Tween80 (89.5:10:0.5, v/v/v) in Rabbits

Test Article: PEG-300:D5W:Tween80 (89.5:10:0.5, v/v/v) for ABT-530

Species and Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mL/kg)	Sex and No. per Group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report Number (CTD Location)
Rabbit New Zealand White	Intravenous Infusion (15 minutes) (PEG 300, D5W, and Tween80, 89.5:10:0.5, v/v/v)	10 Consecutive Days	NA	3F	NA	Although administration of PEG-300: D5W: Tween 80 (89.5:10:0.5, v/v/v) for up to 10 days resulted in bruising, swelling and scabbing of the ears, the test item was deemed tolerable for a subsequent intravenous embryo-fetal developmental toxicity study in rabbits	R&D/13/309 (4.2.3.7.7-PIB-2)